

Induktion von Lungentumoren in NMRI-Mäusen mittels Urethan (Carbamidsäure-Äthylester) und Reaktion des Systems auf unterschiedliche Strahlentherapie-Verfahren

Beitrag zur Evaluation eines Experimental-Tumorsystems für
die präklinische Strahlenbiologie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II

der

Universität Zürich

von

Walter Burkard

von Solothurn und Olten (SO)

Begutachtet von

Prof. Dr. Hedi Fritz-Niggli

Prof. Dr. V. Ziswiler

Zürich 1986

HAAS DRUCK AG



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INDUKTION VON LUNGENTUMOREN IN NMRI-MÄUSEN MITTELS URETHAN
(CARBAMIDSÄURE-AETHYLESTER) UND REAKTION DES SYSTEMS AUF
UNTERSCHIEDLICHE STRAHLENTHERAPIE-VERFAHREN

Beitrag zur Evaluation eines Experimental-Tumorsystems für
die präklinische Strahlenbiologie

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der
Universität Zürich

von
WALTER BURKARD
von Solothurn und Olten (SO)

Begutachtet von
Prof. Dr. Hedi Fritz-Niggli
Prof. Dr. V. Ziswiler

Heike, Daniel und Andreas gewidmet

Ich möchte Frau Prof. Dr. H. Fritz-Niggli danken für die Leitung dieser Arbeit und für die Unterstützung, die sie mir stets gewährt hat. Ebenso gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. V. Ziswiler für die sorgfältige Durchsicht und Begutachtung des Manuskripts.

Den Herren PD. Dr. C. Michel und Dr. G. Mindek danke ich für die wertvollen Diskussionen und Anregungen, Frau B. Lurz und Herrn J. Zehnder für die Hilfe und Beratung in Belangen der EDV und für die sorgfältige Ausarbeitung der grafischen Darstellungen und Herrn T. Suda für die ultrahistologischen Präparationen.

Mein Dank gilt auch Frau H. Rüfenacht-Blauenstein für die fleissige Mitarbeit bei den umfangreichen Tierversuchen und Laborarbeiten.

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	1
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	5
2. URETHAN-WIRKUNG IN ADULTEN MÄUSEN: ORGANSPEZIFITÄT UND QUALITÄT DER TUMORINDUKTION UND IHRE HISTOPATHOLOGISCHE BEURTEILUNG	9
2.1 Übersicht	9
2.2 Material und Methoden	11
2.3 Ergebnisse und Diskussion	12
2.3.1 Quantitative Erfassung der Tumorinduktion durch Urethan	13
2.3.2 Histopathologische Beurteilung	22
a) Gesundes Lungengewebe	22
b) Tumorentstehung und -differenzierung	25
3. MODIFIKATION DER URETHAN-WIRKUNG DURCH CHEMISCHE ZUSATZBEHANDLUNGEN UND DURCH GANZKÖRPER-RÖNTGEN-BESTRAHLUNG	32
3.1 Übersicht	32
3.2 Material und Methoden	37
3.3 Ergebnisse und Diskussion	38
3.3.1 Wirkung nach Behandlung adulter Tiere	39
3.3.2 Wirkung nach Behandlung in utero	44
4. TERATOGENITÄTSABKLÄRUNG FÜR DIE GEWÄHLTEN BEHANDLUNGSWEISEN	49
4.1 Einleitung	49
4.2 Material und Methoden	50
4.3 Ergebnisse und Diskussion	52
5. DNS-SYNTHESEAKTIVITÄT IM LUNGENGeweBE NACH URETHAN-GABE UND MIT URETHAN KOMBINierter BEHANDLUNG	55
5.1 Einleitung	55
5.2 Material und Methoden	57
5.3 Ergebnisse und Diskussion	58

6. KONVENTIONELLE UND SUPERFRAKTIONIERTE STRAHLEN- THERAPIE URETHAN-INDUZIERTER LUNGENTUMORE MIT 240 kVp-RÖNTGENSTRAHLEN UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH CHLORPROMAZIN	64
6.1 Übersicht	64
6.2 Material und Methoden	67
a) Versuchsablauf	67
b) Problematik der Arzneimittel-Nebenwirkungen	68
6.3 Ergebnisse und Diskussion	71
LITERATUR-VERZEICHNIS	77
TABELLEN	97
ABBILDUNGEN	141

ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit untersucht die karzinogene Wirkung von Urethan (Aethylcarbamat; Carbamidsäure-Aethylester) in NMRI-Mäusen nach einmaliger intraperitonealer Injektion quantitativ und qualitativ und prüft die Therapierbarkeit der induzierten Tumore durch Röntgenstrahlen bei unterschiedlichen Therapie-Ansätzen. Sie versteht sich als Beitrag zur Evaluation eines in vivo-Systems, mit dem in der präklinischen Strahlentherapie aktuelle Fragestellungen aus dem Gebiet der Radiotherapie neoplastischer Veränderungen innerer Organe angegangen werden können. In der klinisch orientierten Strahlenbiologie wurden bis anhin transplantable oder in situ induzierte Subkutantumore bevorzugt. Urethan zeichnet sich durch eine äusserst organspezifische und effiziente karzinogene Wirkung auf die Lunge aus, die sich in 85% der männlichen und in sämtlichen weiblichen Versuchstieren in einer von transformierten Pneumozyten-2 ausgehenden primären Lungen-Neoplasie manifestiert. Der alveoläre Ursprung des Tumors wird durch licht- und elektronenoptische Untersuchungen belegt. Die multipel auftretenden Tumore sind subpleural lokalisiert, frühestens 3 Wochen nach Urethangabe makroskopisch erkennbar und in ihrer Frühform, trotz fehlender Inkapsulierung, als eher gutartig anzusehen. Die histopathologischen Untersuchungen zeigen allerdings, dass sich die Tumore im Verlaufe der Zeit und mit fortschreitender Grössenzunahme in Richtung Malignität verändern können, so dass ihre Spätform, etwa 40 Wochen nach Urethangabe, in Erscheinungsbild, Kinetik und Malignität der menschlichen Lungenadenomatose (Alveolarzellkarzinom) sehr ähnlich ist. Extrapulmonäre Veränderungen nach i.p. Injektion von Urethan sind äusserst selten und bleiben in der Grössenordnung des spontanen Auftretens. Ebenso kann keine eindeutige Metastasierungstendenz nachgewiesen werden. Diese Eigenschaften, sowie das langsame Tumorstadium, das bei der kurzen, etwa 2-jährigen Lebensdauer einer Maus nicht zum Krebstod führen kann, erlaubt Langzeitbeobachtungen bei gutem Allgemeinzustand der Tiere. Urethan ist auch transplazental in der gleichen Art, wenn auch weniger ausgeprägt, wirksam. Eine Urethanbehandlung trächtiger

NMRI-Weibchen am 14. Gestationstag hat keine Erhöhung fetaler Letalität zur Folge, übt jedoch eine leichte bis mittlere teratogene Wirkung aus, die sich am Tag 18 der Entwicklung hauptsächlich als Polydaktylie und gelegentlich als Mikrophthalmie, Wolfsrachen oder Nierendysplasie manifestiert.

Mit bestimmten Chemikalien, die das Reparaturvermögen und den Energiestoffwechsel der Zelle beeinflussen können, sowie durch eine Ganzkörperbestrahlung mit kleinen Dosen von 200 kVp-Röntgenstrahlen werden 6 Stunden nach Urethangabe sowohl karzinogene wie teratogene Auswirkungen in gleicher Weise modifiziert. So wirken vor allem Chloroquin, Vitamin C und kleine Strahlendosen im Bereich von lediglich 5 bis 20 cGy deutlich antikarzinogen und zugleich auch antiteratogen. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass in die Auslösung teratogener wie neoplastischer Veränderungen vergleichbare Mechanismen involviert sein können. Möglichkeiten der Wechselwirkung von Urethan mit der DNS, unter anderem auch im Zusammenhang mit autoradiographischen Untersuchungen, werden diskutiert und Möglichkeiten des Eingreifens der Modifikatoren in die Fixierungs- bzw. Reparaturvorgänge werden aufgezeigt. Wahrscheinlich ist eine störungsfreie Wechselwirkung zwischen Urethan und den Pneumozyten-2 für den Erfolg der Karzinogenwirkung wesentlich. Ihr Ausmass ist vermutlich korreliert mit einer vorübergehenden Steigerung der DNS-Syntheseaktivität, die ihr Maximum am Tag 8 nach Urethangabe erreicht. Auf Grund dieser Ergebnisse scheint es sinnvoll, weitere autoradiographische Untersuchungen durchzuführen, um abzuklären, inwiefern sich diese Methode zur Früherkennung einer karzinogenen Reaktion des Lungen-Alveolargewebes einsetzen liesse.

Die Urethan-induzierten Lungentumore sprechen auf die lokale Strahlentherapie mit 240 kVp-Röntgenstrahlen gut an, wobei eine differenzierte Antwort auf unterschiedliche Therapieansätze festzustellen ist. Damit eignet sich das beschriebene Mauslungen-System für präklinische Fraktionierungsstudien, die bei der Suche nach wirksameren Therapiemöglichkeiten unerlässlich sind. Es zeigt sich, dass insbesondere die Multifraktionierung, d.h. die Applikation mehrerer Fraktionen pro Tag an Stelle der üblichen einmal-täglichen Bestrahlung zu besseren Ergebnissen führen dürfte. Dies kommt noch deutlicher zum Ausdruck, wenn die Strahlen-

therapie mit einer täglichen i.p. Injektion von Chlorpromazin kombiniert wird:

Eine 6 Wochen dauernde konventionell durchgeführte Therapie mit einer 5x-wöchentlichen Thoraxbestrahlung mit 1.2 Gy bis zu einer Totaldosis von 36 Gy brachte einen Rückgang der Tumorzahl auf 40% des Wertes für nicht therapierte Tiere, wobei aber keines der Tiere zur vollständigen Remission kam. Eine Unterstützung der selben Therapieform mit Chlorpromazin trug zur Verbesserung des Therapie-Resultates bei, so dass ein Rückgang der Tumorfrequenz auf 25% der therapiefreien Kontrolle zu verzeichnen war, wobei 20% der Tiere gänzlich ohne Tumore waren. Das beste Resultat wurde durch eine mit Chlorpromazin kombinierte Superfraktionierung erreicht, d.h. einer Therapieform, bei der die konventionelle Tagesdosis von 1.2 Gy in 3 Fraktionen zu 0.4 Gy aufgeteilt wurde, die mit Intervallen von 4 Stunden appliziert wurden. Hier wurde die Tumorzahl auf 16% der bei nicht bestrahlten Tieren festgestellten Frequenz gesenkt, wobei 40% der Versuchstiere tumorfrei waren.

Die durch Urethan erzeugten Organtumore werden den wesentlichen Anforderungen, die an ein für die präklinische Strahlenbiologie geeignetes Experimental-Tumorsystem gestellt werden, gerecht: Die Induktion ist technisch einfach, sicher und spezifisch bezüglich Entstehungsorgan und Tumortyp; Tumorerfassung und Auswertung sind routinemässig und, wegen des guten Allgemeinzustandes der Tiere, über lange Zeit möglich, und die Neoplasmen zeigen eine differentielle Reaktion auf unterschiedliche Strahlentherapie-Ansätze.

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Eine bevorzugte Methode zur Erzeugung von Experimentaltumoren bei Säugern ist heute, neben Transplantation und Virusinfektion, insbesondere die chemische Induktion. Diese Tendenz ist sowohl im Zusammenhang mit der heute extensiv angestrebten Untersuchung umweltbelastender chemischer Verbindungen auf ihre Karzinogenität, wie auch aus praktisch-experimentellen Gründen zu verstehen.

Bis anhin wurden in der klinisch orientierten Forschung transplantierte oder in situ-induzierte subkutan wachsende Tumore bevorzugt, da sie gegenüber den Organtumoren den Vorteil einer einfachen individuellen Wachstumskontrolle bieten. Heute hat sich aber die praeklinische Strahlenbiologie vermehrt mit geeigneten Experimental-Tumorsystemen auf inneren Organen zu befassen, da die Erfolgsaussichten einer Strahlentherapie tief gelegener Tumore in den letzten Jahren erheblich zugenommen haben. Wesentlich dazu beigetragen haben die Fortschritte auf dem Gebiet der Kernphysik, die zur technischen Realisierung der Erzeugung selektiver Tiefenwirkungen innerhalb des bestrahlten Körpers geführt haben, sei es durch die Weiterentwicklung von Beschleunigern zur Erzeugung von ultraharten Röntgenstrahlen und schnellen Elektronen (Betatron, Linearbeschleuniger), oder durch die Erzeugung von Teilchenstrahlung in Form schwerer Ionen oder negativer Pionmesonen (Pionen). Dabei haben im biomedizinischen Experiment insbesondere die Pionen Eigenschaften gezeigt, die eine Verbesserung der Strahlentherapie innerer Organe versprechen. Diese Eigenschaften liegen bei der relativ geringen Strahlenbelastung des gesunden Gewebes der Körperoberfläche bei gleichzeitiger optimaler Belastung des Tumorherdes im kritischen Organ (FRITZ-NIGGLI, 1978, 1983).

Die Suche nach einem geeigneten Tumorsystem in einem kritischen Organ ist demnach ein aktuelles Bedürfnis präklinischer Strahlenbiologie. Im Gegensatz zu subkutanen Transplantationstumoren muss dabei in Kauf genommen werden, dass der Verlauf des Tumorwachstums nicht mehr beliebig oft und direkt, d.h. palpativ geprüft werden kann, sondern er muss durch periodisch entnommene,

genügend grosse Stichproben abgeschätzt und statistisch gesichert werden. Der wesentliche Vorteil chemisch induzierter Tumore ist jedoch, dass sie die Situation der Kanzerogenese beim Menschen durch das Vorhandensein eines adäquaten Stromas besser nachahmen als Transplantationstumoren und dass immunologische Wechselwirkungen zwischen Wirt und Tumor seltener auftreten.

Damit ein Experimentaltumor zur Lösung radiotherapeutischer Fragestellungen erfolgversprechend eingesetzt werden kann, muss er zahlreichen Anforderungen genügen, von denen die wichtigsten in der Tabelle 1 zusammengestellt sind. Bei der Auswahl eines geeigneten Chemo-Induktors ist es für die Fragestellungen der experimentellen Radiotherapie von grundlegender Bedeutung, dass sich die Tumore möglichst organspezifisch in situ induzieren lassen, auf dem Zielorgan mit regelmässiger Häufigkeit auftreten und über längere Zeit beobachtet werden können, ohne dass der Allgemeinzustand der Versuchstiere wesentlich beeinflusst wird. Darüber hinaus ist es unerlässlich, das gesundheitsgefährdende Risiko für den Experimentator bei der Evaluation des Karzinogens gebührend zu berücksichtigen.

Damit sind der Auswahl möglicher kanzerogener Stoffe bereits recht enge Grenzen gesetzt. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die wichtigsten chemischen Substanzen, die sich im Tierexperiment als potente Karzinogene innerer Organe erwiesen haben, sowie über ihre Wirkungsweise und mögliche Gefährdung für den Menschen. Nach Elimination stark toxischer und zugleich leicht flüchtiger Substanzen verbleiben solche, die in der Regel nach peroraler Aufnahme oder intraperitonealer Injektion zum Tumorbefall innerer Organe führen. Dabei sind am häufigsten Verdauungstrakt, Leber und Nieren betroffen, und gleichzeitig können auch Veränderungen in anderen Organen, z.T. durch Metastasierung, auftreten.

Eine nur auf ein Organ beschränkte Tumorinduktion kann nur mit einigen wenigen organischen Substanzen erzielt werden. Lediglich drei solcher organspezifisch wirkender Karzinogene lösten bei geeigneter Verabreichungsform Organtumore, und zwar ausschliesslich auf der Lunge, aus. Es handelt sich um 3-Methylcholanthren, einen polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoff, und um zwei nicht zyklische organische Verbindungen,

nämlich Formylhydrazin, ein Ameisensäurederivat, und Urethan (Carbamidsäure-Aethylester), ein Harnstoffderivat.

Durch die Verabreichung von 3-Methylcholanthren mittels intratrachealer Instillation können bei Mäusen je nach Stamm in 83-95% der Versuchstiere Lungenkarzinome erzeugt werden (HENRY et al., 1981). Neben dem Vorteil einer sehr effektiven Induktion ist es jedoch als nachteilig zu werten, dass die erzeugten Neoplasmen bezüglich Typ und Malignitätsgrad erheblich variieren, sich meist invasiv ausbreiten und zur Metastasierung neigen.

Die perorale Gabe von Formylhydrazin während mehrerer Wochen führt dagegen eher zu einer einheitlichen Gruppe von Lungentumoren. Grösstenteils handelt es sich dabei um Adenome, die vom Alveolarepithel ausgehen und in vereinzelten Fällen um Adenokarzinome. Je nach Geschlecht können in 94-100% der Versuchstiere Lungentumoren induziert werden, doch muss gleichzeitig eine deutliche lebensverkürzende Wirkung durch das Karzinogen in Kauf genommen werden (TOTH, 1978).

Urethan hat gegenüber den beiden anderen Lungenkarzinogenen den Vorteil, dass bereits eine einmalige i.p.-Injektion zu einer hohen Tumorinzidenz führt, die je nach Mausstamm zwischen 70 und 100% liegt (MIRVISH, 1968; DYSON und HEPPLESTON, 1975, 1976, 1977).

Während Urethan, dessen chemische und physikalische Daten der Tabelle 3 entnommen werden können, bis Mitte der 70er-Jahre in der Humanmedizin zur palliativen Behandlung chronischer myeloischer Leukämie und als Antimykotikum eingesetzt wurde (GOODMAN und GILLMAN, 1975; MERCK, 1976), ist heute seine Anwendung als Hypnotikum und Anaesthetikum auf die Veterinärmedizin und die tierexperimentelle Forschung beschränkt. Allerdings werden einige Urethan-Derivate (v.a. Dicarbamate, wie Mebutamat und Meproamat; s. Tabelle 3) wegen ihrer antihypertensiven und sedativen Wirkung klinisch eingesetzt. Die technische Verwendung von Urethan ist weit verbreitet in der Kunststoff- und Kunstharztechnologie, wie auch als organisches Lösungsmittel bei der Herstellung von Pestiziden und Kosmetika (I.A.R.C. 7 1974). Was die Umweltbedeutung des Stoffes anbetrifft, ist zudem von Interesse,

dass sich Urethan in Fruchtsäften und Bieren de novo bilden kann, falls diese Diaethylpyrocarbonat als Konservierungsmittel enthalten (LÖFROTH und GEJVALL, 1971; FISCHER, 1972). Entsprechende Umwandlungen können aber auch in vivo erfolgen (UZVÖLGY und BOYAN, 1980). In den U.S.A. werden zudem Medikamente auf der Basis von Urethan, wie etwa Valmid, als Drogenersatz konsumiert, da Urethan schon in relativ geringer Konzentration zu euphorischen Zuständen und erhöhter sexueller Erregbarkeit führen kann (AMMON, 1981).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die organspezifische Wirkung von Urethan und ihre Modifizierbarkeit in einem für diese Experimente geeigneten Mausstamm zu prüfen, die Kanzerogenese histopathologisch zu erfassen und die Ansprechbarkeit des induzierten Tumors auf unterschiedliche Strahlentherapie-Ansätze mittels Röntgenstrahlen zu untersuchen. Sie versteht sich als Beitrag zur Evaluation eines in vivo-Systems, mit dem in der präklinischen Strahlenbiologie aktuelle Fragestellungen aus dem Gebiet der Radiotherapie neoplastischer Veränderungen gezielt angegangen werden können.

2. URETHAN-WIRKUNG IN ADULTEN MÄUSEN: ORGANSPEZIFITÄT UND QUALITÄT DER TUMORINDUKTION UND IHRE HISTOPATHOLOGISCHE BEURTEILUNG

2.1 ÜBERSICHT

Die Karzinogenität von Urethan wurde erstmals 1943 in C3H-Mäusen nachgewiesen. Durch mehrmalige Intraperitoneal-Injektionen von Urethan wurde zwischen dem 2. und 7. Monat nach Behandlungsbeginn eine Zunahme der Lungentumor-Inzidenz von 5% auf 70% beobachtet (NETTLESHIP und HENSHAW, 1943). Später konnte gezeigt werden, dass bereits eine einmalige i.p.-Injektion genügt, um in Mäusen eine Lungenadenomatose auszulösen (SHIMKIN und POLISSAR, 1955). Die Karzinogenität von Urethan nach unterschiedlicher Applikationsform wurde in vielen Laboratorien tierexperimentell geprüft, wobei sich das Interesse lange Zeit fast ausschliesslich auf die quantitative Erfassung der induzierten Neoplasmen beschränkte. Eine ausführliche Übersicht darüber gibt MIRVISH (1968).

Untersuchungen über die Wirkung chronischer Hautapplikationen von Urethan-Lösungen wurden naturgemäss im Nachfeld der Annahme eines Zweistufen-Prozesses bei der DMBA-Hautkarzinogenese, in den 50er-Jahren durchgeführt. Kombinationsbehandlungen mit Crotonöl als Promotor sollten zeigen, ob es sich bei Urethan auch um ein initiierendes Karzinogen handeln könnte. Während SALAMAN und ROE, (1953) den Beweis für einen Zweistufen-Prozess bei der Induktion von Hautpapillomen erbringen konnten, erzielten TANNENBAUM und SILVERSTONE (1958) in unterschiedlichen Mausstämmen mit Hautpinselung allein nicht nur oberflächliche Hauttumore, sondern auch Lungenadenome, Mammakarzinome und Hepatome (vermutlich durch oralen Kontakt mit der Testregion). Diese Tatsache veranlasste Tannenbaum, Urethan als "multipotential carcinogen" zu bezeichnen, ein Ausdruck, mit dem Urethan unglücklicherweise gelegentlich noch heute in Zusammenhang gebracht wird.

Eine chronische orale Gabe von Urethan im Trinkwasser führt in Mäusen unterschiedlicher Stämme hauptsächlich zu vermehrter Lungenadenomatose; daneben können aber auch Leukämie, Hepatome,

Magenpapillome und Adenome der Harder'schen Drüse auftreten, wobei besonders Jungtiere für diese Veränderungen anfällig sind (DELLA PORTA et al., 1963; KLEIN, 1962, 1966).

Die subkutane und intramuskuläre Injektion wirkt sich ähnlich aus wie die orale Gabe, wobei hier die meisten Untersuchungen nach mehrmaliger Administration an subadulten Mäusen durchgeführt wurden. Neben Lungenadenomen wurden häufig auch Lebertumore, Lymphome und Leukämie induziert (CHIECO-BIANCHI et al., 1964; MATSUYAMA et al., 1969).

Die gezielteste Verabreichungsform, die schon nach einmaliger Anwendung zur Lungenadenomatose führt, ist die i.p.-Injektion in adulte Mäuse. Bei den üblicherweise verwendeten outbred-Linien ist durch diese Behandlung eine Inzidenz von 70-100% Tumorträgern zu erwarten, wenn dem Einfluss der zeitlichen Dosisverteilung (WHITE et al., 1967), der altersabhängigen Reaktion auf die Behandlung (DOURSON und STUART-BAXTER, 1981) und der genetischen Disposition unterschiedlicher Versuchstierstämme (MALKINSON, 1983) Rechnung getragen wird. Neue Untersuchungen zeigen zudem, dass wiederholte Injektionen von Butyl-Hydroxytoluen (BHT) nach einmaliger intraperitonealer Urethangabe die Induktion von Lungenadenomen verstärken kann (WITSCHI et al., 1981; MALKINSON, 1983).

Die Tatsache, dass Urethan nach intraperitonealer Verabreichung zwar nicht organspezifisch inkorporiert wird (KAYE, 1968), aber dennoch nur in der Lunge eine eindeutig tumorigene Wirkung hat, hat die Frage nach der Zellspezifität der Urethanwirkung im Lungengewebe aufgeworfen. Umfangreiche histologisch-morphometrische Untersuchungen (SHIMKIN und POLISSAR, 1955; KAUFFMANN, 1969) versuchen Aufschluss darüber zu geben, welcher Zelltyp als Folge der Urethan-Behandlung zur Tumorzelle transformiert. Wegen der Schwierigkeit, beim lichtoptischen Auflösungsvermögen die einzelnen Zelltypen einwandfrei anzusprechen (s. Kapitel 2.3.2), führten solche Untersuchungen aber eher zu Vermutungen, als zu Beweisen. Erst elektronenoptische Studien (ADAMSON, 1969; COALSON et al., 1970; DOLE, 1977) ergaben, dass gewisse Zusammenhänge zwischen den Pneumozyten-2 und den Tumorzellen bestehen. Sie werden im Resultatteil, zusammen mit den ei-

genen Ergebnissen, diskutiert.

2.2 MATERIAL UND METHODEN

Als Versuchstiere wurden adulte Mäuse des NMRI-Auszuchtstammes der Süddeutschen Versuchstierfarm Tuttlingen verwendet. Diese Zucht geht zurück auf eine Inzuchtlinie von "Swiss"-Albinomäusen des US Naval Medical Research Institute (NMRI). Dieser unter SPF-Bedingungen aufrechterhaltene Mausstamm ist bekannt für seine immunologische Stabilität, geringe Krankheitsanfälligkeit und niedrige Spontan-Tumorrate.

Zur Tumorinduktion mittels i.p. Injektion wurde eine sterile wässrige Lösung von 4% Urethan (Urethan purum, Fluka AG) verwendet.

160 Weibchen und 100 Männchen erhielten im Alter von 9 Wochen je eine i.p. Injektion von 0.8 mg Urethan pro Gramm Körpergewicht. Diese Dosierung liegt im subtoxischen Bereich; die LD₅₀ liegt nach unserer Erfahrung zwischen 1.6 und 1.7 mg/g (s. Tabelle 4).

Zudem wurde weiteren 150 Weibchen und 30 Männchen zur Kontrolle die entsprechende Menge einer isotonischen Natriumchlorid-Lösung (0.9%) injiziert.

Zwischen der 5. und 30. Woche nach der Urethaninjektion wurden in regelmässigen Abständen Gruppen von jeweils rund 20 zufällig ausgewählten Weibchen und Männchen auf Tumore untersucht. Für die Weibchen wurden die Untersuchungen noch bis zur 60. Woche fortgesetzt. Dies war bei den Männchen wegen ihres äusserst starken Aggressionstriebes aus tierschützerischen Gründen nicht zu verantworten. Die Zeitpunkte der einzelnen Untersuchungen sind aus der Tabelle 5 ersichtlich. Die Kontrolltiere wurden in der gleichen Zeitspanne (s. Tabelle 6) auf dieselbe, nachfolgend beschriebene Weise untersucht.

Für die Untersuchung der Tiere wurde folgendes Vorgehen ge-

Die Tiere wurden durch Chloroform-Inhalation ad exitum gebracht und zur Inspektion eröffnet. Alle Organe wurden äußerlich erkennbare Veränderungen geprüft und verdächtige Befunde für die histologische Verarbeitung gesichert. Zur besseren Sichtbarmachung der fast ausschliesslich subpleural gelegenen und somit oberflächlich erkennbaren Tumorgebiete wurden die Lungen mittels Trachealinjektion mit einer tuschehaltigen Fixierlösung gefärbt. Dabei können die Tuschepartikel nicht in die schlecht ventilierten Tumorgebiete eindringen und werden so als weisse Flecke auf der schwarz gefärbten Lunge sichtbar (s. Abbildung 1). Die Injektionslösung setzt sich zusammen aus Aethanol-95% (70%), Formaldehyd-40% (10%), Eisessig (5%) und Tusche (15%). Die so dargestellten Tumore lassen sich unter der Binokularlupe auszählen und mit Hilfe eines Messokulars ausmessen. Aus jeder Versuchsserie wurde eine repräsentative Anzahl zufällig ausgewählter Lungentumore zur histopathologischen Beurteilung weiter verarbeitet. Die histologische Verarbeitung erfolgte nach den üblichen Routinemethoden mit Einbettung in Paraplast-Plus. Die 5 Mikrometer dicken Schnittserien wurden in der Regel mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Einige Lungen unbehandelter und behandelter Tiere wurden für die elektronenmikroskopische Analyse aufgearbeitet. Dazu wurde eine Instillationsfixierung in situ mit 6% Glutaraldehyd in Phosphatpuffer durchgeführt. Gewebestücke aus Tumoren und tumorfreien Zonen wurden der Lunge entnommen und in 2% Osmiumtetroxid nachfixiert. Nach Alkohol-Dehydrierung und Kunstharz-Einbettung in Epon-812 wurden auf einem Porter-Blum-MI-2-Mikrotom mit Glasmessern Schnitte von 100 nm Dicke hergestellt, die mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert wurden. Die Auswertung und Fotografie erfolgte mit einem Elektronenmikroskop vom Typ Hitachi HU-11 E bei Originalvergrösserungen zwischen 3'600x und 17'750x.

2.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Darstellung der Urethan-Wirkung in adulten NMRI-Mäusen gliedert sich in zwei Teile:

Der erste ist der quantitativen Erfassung der karzinogenen Wirkung von Urethan gewidmet, wobei die Qualität der Induktion von Lungentumoren, der Wachstumsverlauf der induzierten Neoplasmen und die Organspezifität der Reaktion auf eine einmalige i.p.-Injektion einer subtoxischen Dosis des Karzinogens untersucht wird.

Im zweiten Teil des Kapitels schliesst sich eine histopathologische Beurteilung der Tumorentstehung und -entwicklung an, die Aufschluss geben soll über Einheitlichkeit und Malignitätsgrad der induzierten Lungenneoplasmen.

2.3.1 Quantitative Erfassung der Tumorinduktion durch Urethan

Der makroskopischen Erkennbarkeit der oberflächlichen Tumore auf der gefärbten Lunge (vgl. Abbildung 1) sind Grenzen gesetzt. Zum einen sind sehr kleine Tumore (Frühstadien) unter der Binokularlupe (20-fache Vergrösserung) nicht erkennbar, was bei quantitativen Aussagen bezüglich Tumorinduktion besonders in den ersten Wochen nach Urethangabe ins Gewicht fällt. Zum andern hat die histologische Verifikation (s. Abschnitt 2.3.2) ergeben, dass helle Zonen, die sich nach der Tusche-Perfusionsfärbung auf der Lunge zeigen, nur dann mit Sicherheit als Tumore angesprochen werden können, wenn sie als runde und farblich scharf gegenüber dem benachbarten Gewebe abgegrenzte Flecke von mindestens 2 Millimeter Durchmesser auftreten. Kleinere helle Zonen wurden nicht in die Bewertung einbezogen. Die einzelnen Lungenlappen wurden separat ausgewertet. Zur Veranschaulichung der Lungenmorphologie sei auf Abbildung 2 hingewiesen. Da keine einheitliche Nomenklatur existiert, wird die Lunge der Maus hier folgendermassen beschrieben: die Lunge gliedert sich in 5 Lappen (lobi pulmonales), von denen der grösste, der linke Lobus, den unsegmentierten linken Lungenflügel bildet. Die rechte Lungenhälfte ist in 4 Lappen gegliedert, von denen sich drei überlappen und den eigentlichen rechten Lungenflügel bilden. Von cranial nach caudal werden sie als oberer, mittlerer und unterer Lobus bezeichnet. Ebenfalls dem rechten Stammbronchus zugehörig ist schliesslich der kleinste, als Herzlobus bezeichnete Lappen, der

sich zwischen die beiden Lungenflügel schiebt und dort die untere Hohlvene und einen Teil des rechten Herzhofes umschliesst.

Die Tabellen 7.1 bis 7.13 enthalten sämtliche Einzelwerte für die gewählten Untersuchungszeitpunkte, d.h. 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 und 60 Wochen (Weibchen) respektive 5, 10, 15, 20 und 30 Wochen nach Urethan-Injektion (Männchen). Für jeden Zeitpunkt wird zudem eine Zusammenfassung der Daten in Form der klassischen Parameter für die Beurteilung der Induktionsqualität gegeben. Es sind dies die Tumorprävalenz (% Tiere mit erkennbaren Tumoren), die Tumorfrequenz (mittlere Anzahl Tumore pro Versuchstier) und die Tumorgrösse (mittlerer gemessener Tumordurchmesser bzw. errechnetes Tumolvolumen).

Diese Form der Datendarstellung drängt sich hier aus Gründen der Vergleichbarkeit mit Angaben aus der Literatur auf, wo sie zur Beschreibung der Tumor-Induktionsqualität generell angewendet wird, selbst dann, wenn die Daten keineswegs normalverteilt sind. Dies trifft in der Regel für die Parameter "Tumorfrequenz" und "Tumorgrösse" zu, für deren Beurteilung demnach auch die üblichen parametrisch-statistischen Methoden nicht angewendet werden sollten (siehe unten).

Bei der Betrachtung der Tumorprävalenz ist es von Bedeutung, dass die pulmonäre Adenomatose bei Mäusen unter den wenigen Neoplasmen, die in Labortieren spontan auftreten können, am weitesten verbreitet ist. Die Häufigkeit ihres Auftretens in einem Tierstamm ist daher ein genereller Masstab für seine Tumoranfälligkeit. Dabei treten beachtliche genetisch determinierte Unterschiede auf. So weisen im Alter von 23 Wochen 71% der Mäuse des Inzuchtstammes A spontane Lungentumore auf, während es bei C57Bl-Mäusen lediglich 7% sind (SHIMKIN und STONER, 1975). Viele Autoren vertreten auch die Ansicht, dass sich die Induzierbarkeit von Tumoren direkt proportional zu ihrem spontanen Auftreten verhält.

Erstaunlich, und von grossem Wert für unsere Bedürfnisse, ist daher die Tatsache, dass sich in unserem NMRI-Stamm Lungentumore, trotz ihres seltenen spontanen Auftretens, sehr effektiv induzieren lassen:

Im Verlauf der Beobachtungsperiode der Versuchstiere, d.h. im Alter zwischen 16 und 69 Wochen ist keine wesentliche Veränderung der Spontanrate, die sich zwischen 5% und 10% bewegt, zu verzeichnen (s. Tabelle 6 und Abbildung 3). Dagegen hat eine einmalige i.p. Injektion von 0.8mg/g Urethan in weiblichen Tieren eine mit der Zeit fortschreitende Zunahme der Prävalenz makroskopisch erkennbarer Lungentumore zur Folge, die nach 30 Wochen 100% erreicht hat. Bei männlichen Tieren scheint sich nach ca. 27 Wochen ein Pläteau einzustellen, das bei 85% liegt (s. Tabelle 5 und Abbildung 3). Die zeitliche Zunahme tumortragender Tiere hängt mit dem unterschiedlichen und sehr langsamen Wachstum der Tumore zusammen, die erst bei Erreichen einer Grösse 0.2 Millimeter Durchmesser makroskopisch als solche angesprochen werden können.

Extrapulmonäre Veränderungen traten lediglich in 6 von 260 Tieren (2.3%) auf. Es waren dies 4 Weibchen mit subkutanen neoplastischen Knoten von 5-10mm Durchmesser, die zwischen der 50. und 60. Woche nach Urethangabe in der Axilla auftraten, 1 Weibchen mit einem Nieren-Cystadenom, 40 Wochen nach Urethan und 1 Männchen mit einem Leberbefund in der 30. Woche (s. Kapitel 2.3.2 und Abbildung 18).

Der Allgemeinzustand der Mäuse war während des ganzen Versuches gut und die Letalität der weiblichen Mäuse unterschied sich mit 1.9% (3/156) kaum von der Kontrollgruppe mit 1.2% (2/150). Die Tumore waren nie unmittelbare Todesursache.

Die Daten, die Tumorfrequenz und Tumorgrösse zu unterschiedlichen Zeiten nach Urethan beschreiben, sind der Tabelle 5 zu entnehmen, wo sie in konventioneller Weise als Mittelwerte mit ihren Standardfehlern aufgeführt sind. Um einen Eindruck über die effektive Verteilung der Daten zu gewinnen, wurden die nach dem "stem-and-leaf-display" geordneten Daten als "box-and-whisker-plot" (s. TUKEY, 1977) grafisch dargestellt (Abbildungen 5 und 6). Zum besseren Verständnis dieser grafischen Darstellungsmöglichkeit, die nachfolgend kurz erläutert wird, sei auf Abbildung 4 hingewiesen. Hier wird die Tumorfrequenz bei den männlichen Versuchstieren in Abhängigkeit von der Zeit nach

Urethan-Injektion sowohl als "box-and-whisker-plot" (Abbildung 4a), wie auch in konventioneller Weise mit Mittelwert und Standardfehler (Abbildung 4b) dargestellt. Dabei wird deutlich, dass nur die erste Darstellungsweise einen Eindruck über die effektive Datenverteilung vermitteln kann:

Im "box-and-whisker-plot" beinhaltet das rechteckige Feld (box) 50% der Daten. Es wird durch den Medianstrich, der das Zentrum der Verteilung angibt, in eine obere und eine untere Quartile geteilt. Die Bereiche, die beidseitig an die Box anschliessen und die sogenannten "adjacent"-oder "inside"-Werte enthalten, werden durch Striche ("whiskers") angedeutet. Zur Bestimmung der Grenzwerte dieser Bereiche wird die "interquartile range" (IQR) berechnet, d.h. es wird die Differenz der äussersten Werte der beiden Quartile gebildet. Dieser IQR wird sodann mit 1.5 multipliziert, was den sogenannten "step"-Wert ergibt. Der Endpunkt des oberen "whiskers" wird nun gefunden durch Addition des höchsten Wertes der oberen Quartile (H_o) mit dem "step"-Wert. Falls der höchste beobachtete Wert darunter liegt, endet der "whisker" dort. Für den Endpunkt des unteren "whiskers" wird analog verfahren, wobei der "step"-Wert vom tiefsten Wert der unteren Quartile (H_u) subtrahiert wird. Werte, die ausserhalb der "whisker" liegen werden als "outside-values" bezeichnet. Sie werden in der Grafik einzeln mit Ziffern, die die Anzahl der entsprechenden Werte angibt, eingetragen. Dabei wird noch unterschieden zwischen "out"- und "far out"-Werten. Letzteren wird zur Ziffer noch ein kleines "f" beigelegt. "far out"-Werte liegen ausserhalb der Grenze ($H_o + 2 \times \text{"step"}$) bzw. ($H_u - 2 \times \text{"step"}$).

Im Falle einer symmetrischen Datenverteilung (Normalverteilung), müsste die Box durch den Median in zwei gleich grosse Teile gegliedert werden. Zudem müssten oberer und unterer "whisker" die gleiche Länge haben und die "out"-Werte, sofern vorhanden, müssten sich gleichmässig auf den oberen und den unteren Bereich verteilen. Die errechneten Mittelwerte sollten dann ebenfalls mit der Medianlinie zusammenfallen. Aus den Abbildungen 4 bis 6 ist ersichtlich, dass dies für die Frequenz und Grösse der Tumore keineswegs der Fall ist. In der Regel liegen schiefe Verteilungsmuster vor, die für vergleichende Betrachtungen den Bei-

zug nichtparametrischer Statistik-Methoden voraussetzen. Abbildung 4 verdeutlicht, dass zwei gleichen Mittelwerten unterschiedliche Verteilungsmuster zugrunde liegen können: In der konventionellen Darstellung (Abbildung 4b) tritt zwischen der 20. und 30. Woche nach Urethan-Behandlung ein Plateau auf, während die Abbildung 4a (box-plot) eine Weiterentwicklung verdeutlicht, indem der Verteilungsschwerpunkt (Median) nach oben verlagert wird. Zudem liegt bei gleichem Mittelwert 20 Wochen nach Urethan für 75% der Versuchstiere die obere Grenze der Tumorfrequenz bei 5 Tumoren; 30 Wochen nach Urethan dagegen bereits bei 7 Tumoren pro Versuchstier. Der hohe Wert für den mittleren Durchmesser in der 20. Woche ist durch einzelne "Ausreisser" bedingt. Aus der konventionellen Darstellung ist nicht ersichtlich, dass rund 75% der Daten unterhalb des Mittelwertes liegen und 85% ausserhalb der Fehlerbalken.

Abbildung 5 veranschaulicht die Tumorfrequenz, d.h. die mittlere Anzahl makroskopisch erkennbarer Lungentumore in Abhängigkeit von der Zeitspanne zwischen der Urethan-Injektion und der Beurteilung. Es ist ersichtlich, dass bei den Weibchen die ersten Tumore früher auftreten, als bei den Männchen, wo die Induktion generell weniger effektiv ausfällt.

Betrachtet man die Medianwerte als Schwerpunkte der Datenverteilung, so stellt man für beide Geschlechter in den ersten 20 Wochen nach Urethan eine lineare Zunahme der Tumorzahl fest. Nach 30 Wochen liegt bei Mittelwerten von 5.1 (Weibchen) resp. 4.7 Tumoren pro Lunge (Männchen) bei einer vergleichbaren Datenverteilung der Medianwert für beide Geschlechter bei 3 Tumoren. Zwischen der 40. und 60. Woche nach Urethan stabilisiert sich dann die mittlere Tumorzahl bei ca. 7 Tumoren pro Lunge und gleichzeitig normalisiert sich die anfänglich stark nach unten schiefe Datenverteilung etwas. 60 Wochen nach Urethan weisen bei einem Medianwert von 6 Tumoren pro Lunge 25% der Weibchen 2-4 Tumore auf; für 50% sind es 4-10 Tumore und für die restlichen 25% 10-15 Tumore. Diese Tumorfrequenz bei gleichzeitig hoher Prävalenz entspricht gemäss MALKINSON und BEER (1983) jener von Mäusstämmen mittlerer karzinogener Empfindlichkeit gegenüber Urethan.

Für den NMRI-Stamm bestätigt sich, was bereits bei der Tumoprävalenz deutlich wurde, nämlich, dass ein Beobachtungsintervall von mindestens 30 Wochen nötig ist, um die karzinogene Wirkung bzw. die Qualität der Tumor-Induktion durch eine einmalige i.p.-Injektion von Urethan zu beurteilen. Dieses Intervall ist doppelt so lang, wie das für vergleichende Untersuchungen vorgeschlagene und oft gewählte von 14-16 Wochen (SHIMKIN und STONER, 1975).

Untersucht man die Häufigkeit des Auftretens oberflächlicher Tumore auf den einzelnen Lungenlappen (s. Tabelle 8), so stellt man fest, dass sie direkt korreliert ist mit der Grösse bzw. der Oberflächenausdehnung des Lobus. Von den in der ganzen Versuchsserie bei 254 Tieren festgestellten 933 Tumoren entfallen 302 (32%) auf den grössten, den linken Lobus; auf die nächstkleineren, ungefähr gleich grossen, nämlich den unteren und den mittleren Lungenlappen 205 (22%) resp. 200 (21%). Auf dem zweitkleinsten oberen Lobus wurden 153 (16%) der Tumore und auf dem kleinsten, dem Herzlobus, 83 (9%) gefunden. Dieser Tatsache ist, insbesondere wegen der fast ausschliesslich subpleuralen Lage der induzierten Tumore, bei der histopathologischen Beurteilung (siehe Kapitel 2.3.2) Rechnung zu tragen, um eine allfällige pleuroendotheliale Herkunft des Tumors (Mesotheliom) abzuklären.

Als Mass für die Tumorgrösse wird der an der Lungenoberfläche messbare Durchmesser angegeben, ein Mass, das gut übereinstimmt mit der histologisch ermittelten Ausdehnung der Neoplasmen. Die Werte für unterschiedliche Zeiten nach Urethangabe charakterisieren das Tumorwachstum und sind den Tabellen 5 und 7 zu entnehmen. Dabei ist zu beachten, dass sich ohne histologische Verifikation nur Tumore von mindestens 0.2 Millimeter Durchmesser ansprechen lassen. Kleinere Tumore und Tumor-Vorstadien sind nicht in den Daten enthalten. Zudem sind nur die oberflächlichen Tumore berücksichtigt, doch haben sowohl die histologischen Untersuchungen (s. Kapitel 2.3.2) wie Aufhellungspräparationen tumorreicher Lungen gezeigt, dass die Tumore fast ausschliesslich subpleural liegen und oberflächlich erkennbar sind. Die ersten Tumore von mindestens 0.2 Millimeter Durchmesser manifestieren sich nach ca. 3-5 Wochen. Es ist jedoch anzunehmen,

dass die Tumore ohne Latenzzeit wachsen und jeweils aus einzelnen, kurz nach der Urethan-Exposition transformierten Zellen hervorgehen. Die Herkunft solcher Tumor-Ausgangszellen wird im Kapitel 2.3.2 diskutiert. Die Beobachtung sogenannter "hyperplastischer Foci", d.h. von Zonen mit interalveolären Zellanhäufungen, die wenige Tage nach Urethan auftreten (s. Abbildung 8), lässt vermuten, dass es sich dabei um Tumor-Vorläufer handelt. Allerdings muss angenommen werden, dass sich lange nicht alle hyperplastischen Foci zu Tumoren weiter entwickeln. SHIMKIN und POLISSAR (1955) stellten in Serieschnitten durch Lungen Urethan-behandelter Stamm-A-Mäuse bereits 2 Wochen nach Behandlung 294 solcher Foci fest, während die Anzahl subpleuraler Tumore pro Lunge 24 nicht überstieg.

Für die Interpretation der Wachstumskinetik ist die Analyse von Änderungen in der Tumogrößen-Verteilung mit zunehmender Zeit nach der Urethangabe wesentlich. Sie wird verdeutlicht durch die "box-plot"-Grafik der Abbildung 6. In der Beobachtungszeit-spanne von nur 30 Wochen sind bei den Männchen die Werte für die Tumordurchmesser annähernd normal verteilt, d.h. die Medianwerte liegen im Zentrum der Verteilung und entsprechen ziemlich genau den Mittelwerten (s. auch Abbildung 7). Die Streuung ist relativ klein, "Ausreisser" sind selten und die Grössenzunahme ist eine lineare Funktion der Zeit. Die histologische Analyse (Details s. Kapitel 2.3.2) zeigt denn auch, dass es sich in diesem Bereich um einen relativ gutartigen, homomorphen und langsam wachsenden Tumor, ein Adenom, handelt. Eine ähnliche Wachstumskinetik mit guter Übereinstimmung von Mittel- und Medianwert ist auch für die Weibchen zwischen der 5. und 20. Woche nach Urethan zu verzeichnen, wobei die Werte bei ähnlicher Streuung generell tiefer liegen als bei den Männchen. Während in der 5. Woche nach Urethan für 75% der Männchen der Tumordurchmesser 400-500 Mikrometer beträgt, bewegt er sich für den gleichen Anteil der Weibchen zwischen 200 und 400 Mikrometern. Dieser Rückstand bleibt bestehen bis zur 20. Woche, wo die entsprechenden Werte für die Männchen zwischen 500 und 700 Mikrometern und für die Weibchen zwischen 400 und 750 Mikrometern liegen. In der 30. Woche erfolgt eine Umkehr, d.h. die Werte liegen nun für die Weibchen höher, und ab diesem Zeitpunkt ist auch eine markante Veränderung in der

Grössenverteilung der Tumore festzustellen. Die deutliche Verlängerung der oberen Quartile und des oberen "whiskers" gegenüber den unter dem Median liegenden Anteilen in der 30. Woche und das vermehrte Auftreten von "out"- und "far out"-Werten zwischen der 30. und der 60. Woche könnte ein Hinweis darauf sein, dass ein kleinerer Teil der Tumorphopulation rascher wächst, als der andere, grössere Teil. Eine Bestätigung dafür brachte die histopathologische Analyse (s. Kapitel 2.3.2), die zeigt, dass 30 Wochen nach Urethan erstmals ein relativ kleiner Anteil der Tumore eine zunehmende Tendenz zur Papillarisierung aufweist. Solche Tumore sind als Vorstufe der schneller wachsenden und eindeutig malignen Tumore anzusehen, wie sie zwischen der 40. und 60. Woche nach Urethan auftreten können. Ihr relativ geringer Anteil gegenüber den langsamer wachsenden, gutartigen Adenomen erklärt das schiefe Verteilungsmuster, wodurch die nach der konventionellen Methode errechneten Mittelwerte deutlich höher zu liegen kommen als die Medianwerte.

Dass die Tumore auf singuläre, kurz nach Urethangabe transformierte Zellen zurückzuführen sind, ist aufgrund der von SHIMKIN und POLISSAR (1955) ermittelten Zellzahlen recht wahrscheinlich. Danach setzen sich die frühesten, nach 3 Wochen auftretenden Tumore aus ca. 400 Zellen zusammen. Das bedeutet, dass sich diese Zellen theoretisch alle 2.43 Tage ($2^{(21/2.43)} = 400$) geteilt haben müssen. Diese Generationszeit von 58 Stunden stimmt mit der von DYSON und HEPPLESTON (1976) autoradiographisch ermittelten Zellzyklusdauer für die Tumorzellen überein.

DOLE (1977) hat das Tumorwachstum aufgrund der Daten von SHIMKIN und POLISSAR näher analysiert und gesehen, dass die Grösse der hyperplastischen Foci, gemessen am mittleren Radius, mit der Quadratwurzel der Zeit zunimmt, die Grössenzunahme der Tumore dagegen eine lineare Funktion der Zeit darstellt. Eine Erklärung dafür findet DOLE dank seiner rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen, die zeigen, dass die Tumorzellen frei beweglich sind und zunächst einer zufälligen dreidimensionalen Ausbreitungskinetik unterliegen. Mit zunehmender Zelldichte scheint vermehrt eine Kontaktinhibition zwischen den Tumorzellen aufzutreten, die das Wachstum reguliert.

Die Prüfung der Abhängigkeit der Tumorgrösse (Durchmesser) vom Zeitintervall zwischen Urethangabe und Beurteilung hat auch für unsere Daten ergeben, dass sowohl für die Mittel- wie die Medianwerte die Grössenzunahme durch eine lineare Zeitabhängigkeit recht gut beschrieben werden kann (s. Abbildung 7).

Ausgehend von den Angaben von SHIMKIN und POLISSAR (1955) über die Zellzahl früher Urethan-induzierter Lungentumore seien ein paar Überlegungen angestellt, welche die Wachstumskinetik etwas veranschaulichen sollen und die für die von DOLE (1977) postulierte Kontaktinhibition mit zunehmender Zellzahl sprechen: SHIMKIN und POLISSAR errechnen, dass ein Tumor mit einem Durchmesser von 70 Mikrometer, entsprechend einem kugelförmigen Volumen von 0.0002 mm^3 , ca. 400 Zellen beinhaltet. Dies bedeutet für einen Tumordurchmesser von 357 Mikrometer, wie er entsprechend der Regressionsgeraden (Abbildung 7) 5 Wochen nach Urethan bei den Weibchen zu erwarten ist, eine Zellzahl von 47'600 (Volumen = 0.0238 mm^3). Würden sich alle Zellen dieses Tumors gleichmässig alle 2.43 Tage teilen, wie wir das oben errechnet haben, so ergäbe das theoretisch in 10 Wochen 28.8 Teilungen. Dies würde jedoch 15 Wochen nach Urethan zu einer Zellzahl von über 10 Billionen führen. Dies ist schon dadurch ausgeschlossen, dass bei gleichbleibender Zelldichte dabei ein Volumen von $5'000 \text{ cm}^3$ oder 5 Litern, verdrängt werden müsste. In Wirklichkeit beträgt das Tumolvolumen 15 Wochen nach Urethan lediglich 0.164 mm^3 , entsprechend einem Durchmesser von 588 Mikrometer. Daraus leitet sich ein Inhalt von 328'000 Zellen her ($47'600 : 0.0238 \times 0.164$). Diese Zellzahl kann theoretisch auf zwei Arten zustande kommen: Entweder haben alle Zellen die selbe, stets gleich bleibende Zellteilungswahrscheinlichkeit, und es findet eine geringere Anzahl Zellteilungen statt, als erwartet, oder aber die Teilungsfähigkeit ist auf einen beschränkten Anteil der Zellen des Tumors limitiert. Im ersten Falle wären lediglich 2.72 Teilungen nötig, um die Zellzahl von 47'600 auf 328'000 zu erhöhen. Teilt man andererseits diese theoretische Anzahl Teilungen durch die erwartete Anzahl von 28.8, so ergibt sich für den zweiten Fall, dass noch ein Anteil von 9.4% der Tumorzellen als teilungsfähig angesehen werden kann. Ein ähnlich geringer Anteil teilungsfähiger Zellen wurde von DYSON und HEPPLESTON (1975) mittels

autoradiographischer Untersuchungen gefunden, wo sich 14 Wochen nach Urethan noch ein Anteil von 6.2% aller Tumorzellen teilt. Die Teilungsfähigkeit scheint, wie das auch von DYSON und HEPPELSTON festgestellt wurde, mit zunehmendem Alter abzunehmen. Aus der Tabelle 9 sind die Resultate entsprechender Berechnungen für die Zeitspanne zwischen der 10. und 60. Woche nach Urethan ersichtlich. Demnach müsste der Anteil teilungsfähiger Zellen im Tumor konstant weiter sinken, und zwar von 5.7% zwischen der 10. und 20. Woche bis 2.1% zwischen der 50. und 60. Woche nach Urethan. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass für diese Berechnung von einer gleich bleibenden Zelldichte ausgegangen wurde und allfällige Zellverluste und zunehmende Nekrosis nicht berücksichtigt sind.

2.3.2 Histologische Beurteilung

a) Gesundes Lungengewebe

Das histologische Bild der Loben gesunder Lungen zeigt eine feinverzweigte, netzartige Struktur (Abbildung 9a). Dieser charakteristische, schwammähnliche Bau kommt durch Verzweigung der terminalen Bronchioli in mehrere Millionen kleiner Kammern, sogenannte Alveolen oder Lungenbläschen, zustande, in deren Wände der Gasaustausch zwischen Blut und Atemluft stattfindet. Die so erreichte Vergrößerung der internen Lungenoberfläche beträgt für die Maus ca. 4m^2 , für die Ratte 7.5m^2 und für den Menschen rund 150m^2 (GEHR et al., 1978).

Die einzelnen Zellen, aus denen sich die Alveolarwände aufbauen, sind im Lichtmikroskop nur schwer voneinander zu unterscheiden (siehe Abbildung 9b). Dies erklärt sich aus der Tatsache, dass die Zellen des Alveolarepithels und des Gefässendothels der Blutkapillaren extrem flache Zytoplasmafortsätze aufweisen, die sich kaum von Fibrozytenfortsätzen unterscheiden, welche das eigentliche Gerüst der Alveolarsepten bilden. Zudem verschmelzen in der Regel die Basallamina zwischen Alveolarepithel und Endothel, so dass eine genaue Unterscheidung des Feinbaus der alveolären Strukturen nur mit Hilfe des Elektronenmikroskops möglich ist. Abbildung 9c zeigt schematisch die wichtigsten Zellen des Alveolarbereichs, die sich anteilmässig wie folgt auf das Lungenparen-

chym verteilen (HAJES et al., 1981): Pneumozyten-1 = 7.5%; Pneumozyten-2 = 14.5%; Endothelzellen = 43%; Interstitialzellen (Fibrozyten) = 31.8% und Makrophagen = 3.2%. Bedingt durch die limitierte Möglichkeit einer lichtoptischen Strukturanalyse und unterschiedliche histologische Färbetechniken existieren für die einzelnen Zelltypen zahlreiche andere Bezeichnungen; eine einheitliche Nomenklatur steht aus.

An der epithelialen Auskleidung der Alveolarwände sind zwei morphologisch und funktionell recht unterschiedliche Zelltypen beteiligt:

Die Pneumozyten-1 (Synonyme: kleine Alveolarzellen, Deckzellen, Plattenzellen, Typ-B-Zellen, Membranpneumozyten) haben flache Zytoplasmafortsätze, die über 90% der Alveolenoberfläche mit einer plattenartigen Schicht von stellenweise weniger als 0.1 Mikrometer Dicke überziehen, was zur irrtümlichen Bezeichnung "Kernlose Platten" geführt hat. Diese dünne Deckplatte gewährt den Gasaustausch und stellt die eigentliche Blut-Luft-Schranke dar (siehe Abbildung 10a). Diese hochspezialisierten Zellen sind arm an zytoplasmatischen Organellen und scheinen sich nicht teilen zu können. Zellkinetische Studien (EVANS, 1973; SMITH, 1979) haben ergeben, dass ihr Ersatz durch Differenzierungsvorgänge sich teilender Pneumozyten-2 (Stammzellen) erfolgt.

Im Gegensatz dazu sind die Pneumozyten-2 relativ grosskernig und kuboidal und werden wegen ihres markanteren Erscheinungsbildes auch grosse Alveolarzellen genannt. Diese Bezeichnung ist insofern irreführend, als ihr Volumen wegen der fehlenden Zytoplasmafortsätze nur halb so gross und die Oberfläche 50 mal kleiner ist als jene der Pneumozyten-1. Wegen ihrer bevorzugten Lage in den Verzweigungen der Alveolen, werden sie auch Nischenzellen genannt. (Weitere Synonyme: granuläre Pneumozyten, sekretorische Alveolarzellen, Vakuolenzellen, Typ-A-Zellen). Elektronenoptisch unterscheiden sich die Pneumozyten-2 deutlich von den Pneumozyten-1 (siehe Abbildung 10b). Ihre Ultrastruktur legt nahe, dass es sich um metabolisch hoch aktive Zellen handelt, die neben vielen Mitochondrien als einzige Zellen der Lunge die charakteristischen Lamellarkörper ("lamellar bodies") aufweisen. In den mit einer Doppelmembran umgebenen Lamellenkörpern findet die Synthese des sogenannten "surfactant" statt, eines Phospho-

lipids, das auf die Alveolenoberfläche ausgeschieden wird, dort die Oberflächenspannung herabsetzt und damit der Kollapstendenz entgegenwirkt. Die Lamellarkörper zeigen eine grosse Variabilität, die u.a. von der Fixierungstechnik abhängt. Die Frage ist offen, ob es sich, wie das viele Autoren vermuten, um umgewandelte Mitochondrien handeln könnte (vergleiche dazu Abbildung 10c). Die Lamellenkörper können, insbesondere in Urethan-behandelten Lungen, an Grösse und Zahl ein beträchtliches Ausmass annehmen (Abbildung 10e). Sie sind dann sogar im Lichtmikroskop als vakuolenartige hellere Zonen schwach erkennbar, was zur Bezeichnung "vacuolated alveolar cells" (KAUFFMANN, 1969,1971) geführt hat. Zahlreiche Microvilli an der Oberfläche der Pneumozyten-2 haben vermutlich mit der Ausscheidung und Verteilung des "surfactant" zu tun (SMITH und RYAN, 1973; RYAN et al, 1975).

Pneumozyten-2 können auch in den Alveolarraum ausgeschieden werden, aus dem sie durch Expiration oder Phagozytose eliminiert werden, oder aber eine Differenzierung zu Makrophagen durchmachen, die dann lichtoptisch kaum mehr von Makrophagen hämatopoetischen Ursprungs unterschieden werden können. Diese gemischte Herkunft der Alveolarmakrophagen wurde erstmals von PINKET (1966) mittels eines Chromosomenmarkers eindeutig nachgewiesen. Elektronenoptisch lassen sich zwar zwei Typen von Makrophagen unterscheiden (siehe Abbildung 11), es steht jedoch nicht fest, ob diese morphologischen Unterschiede mit der Herkunft assoziiert sind.

Der eine Makrophagentyp (Typ-1) enthält einen grossen, abgerundeten Zellkern relativ homogener Struktur, aufgelockertes Zytoplasma mit zahlreichen grossen Vakuolen, homogenen elektronendichten Lysosomen und nur wenige Zytoplasmafortsätze.

Der andere Makrophagentyp (Typ-2), hat die Tendenz, mit weiteren Makrophagen zu aggregieren. Er enthält einen kleineren, eingebuchteten und stark strukturierten Zellkern und ein dichtes Zytoplasma mit zahlreichen oberflächlichen Microvilli, die an Pneumozyten-2 erinnern. Zudem kann man Zytoplasmaeinschlüsse feststellen, die an Lamellarkörper erinnern, oder die myelinartige Strukturen aufweisen, wie sie gelegentlich auch in Pneumozyten-2 und oft in Tumorzellen (Abbildung 20) festgestellt

werden und die dort als kristalline Speicherform von "surfactant" interpretiert werden (STRATTON, 1977).

b) Tumorentstehung und -differenzierung

In den ersten Wochen nach Urethanapplikation konnten vermehrt lokal begrenzte Anhäufungen von Zellen beobachtet werden, die sich lichtoptisch nicht von Pneumozyten-2 unterscheiden lassen. Diese Zellen lagern sich den Alveolarsepten an und füllen die freien Alveolarräume aus; ein Erscheinungsbild, das den von SHIMKIN und POLISSAR (1955) beschriebenen hyperplastischen Foci entspricht. Es handelt sich dabei zweifelsfrei um Tumorstadien, d.h. um vermutlich bereits transformierte Zellen, die proliferieren und sich schliesslich zu einem Tumor verdichten (siehe Abbildung 12), denn es sind alle Übergänge zwischen solchen Foci und dem kompakten Tumor zu beobachten (vgl. auch Abbildungen 13a und 13b).

Wegen der schwierigen Unterscheidbarkeit einzelner Zelltypen im Lichtmikroskop und der je nach Schnittebene im Tumoralappen stark variierenden Zell- und Alveolendichte sind morphometrische Studien zur Abklärung einer allfällig zunehmenden Zellproliferation in Pleuranähe fraglich und wurden nicht durchgeführt.

Hinweise darauf, dass es sich bei den transformierten Zellen tatsächlich um Pneumozyten-2 handelt, geben v.a. unsere ultrastrukturellen Studien (siehe unten), aber auch die im Kapitel 4 beschriebenen autoradiographischen Untersuchungen. Die Tumore, die in dieser frühen Phase, d.h. bis zur 5. Woche nach Urethangabe beobachtet werden können, sind ausschliesslich in subpleuraler Lage anzutreffen und von einheitlicher Struktur. Sie heben sich deutlich vom gesunden Gewebe ab (Abbildung 14). Obschon sie extrabronchial wachsen, belegt die Beurteilung der histologischen Malignitätskriterien ihre Ähnlichkeit zu den menschlichen Bronchialadenomen. Die einheitlichen kuboidalen Zellen sind trabekulär angeordnet und bieten in ihrer dichten Packung ein regelmässiges, gutartig aussehendes Bild, auch wenn eine Inkapsulierung fehlt und ein lokal invasives Wachstum nicht ausgeschlossen

werden kann. Diese Adenomform entspricht auch den spontan auftretenden Lungentumoren und wird von uns als trabekuläres Adenom bezeichnet.

Mit zunehmender Zeit nach Urethan-Behandlung treten neue Tumortypen auf, die sich auf Grund histopathologischer Merkmale voneinander unterscheiden und in 5 distinkte Klassen (A bis E) einteilen lassen.

Die Grössenverteilung innerhalb einzelner Tumorklassen (A bis E), die auf einer zufällig getroffenen Auswahl beruht, lässt es zu, zugehörige Grössenklassen (1 bis 5) zu bilden, ohne dass sich wesentliche Überschneidungen ergeben (Abbildung 16). Die Korrelationsanalyse nach Batschelet (BATSCHELET, 1971) zeigt, dass die Auswertung nach Grössenklassen ein realistisches Bild für die effektive Verteilung auf die entsprechenden Malignitätsklassen A bis E gibt ($p < 0.05$).

Generell ist zu sagen, dass im Verlaufe der Zeit eine Verschiebung von A nach E, bzw. von 1 nach 5 erfolgt, d.h., dass der anfänglich eher gutartig aussehende Tumor zunehmend maligner wird. Diese Verschiebung ist aus Abbildung 17 deutlich ersichtlich. Die genauen Werte finden sich in Tabelle 11.

Die einzelnen Tumorklassen werden in der Tabelle 10 charakterisiert und die entsprechenden Illustrationen finden sich in Abbildung 13. Dazu einige Ausführungen:

Abbildung 13c zeigt den zweiten Tumortyp der Klasse B, der erstmals 20 Wochen nach Urethangabe auftritt und ein heteromorphes Erscheinungsbild zeigt, mit mehrheitlich zylindrischen Zellen und einer noch nicht abgeschlossenen Papillarisierung. Wir bezeichnen ihn daher als pseudopapilläres Adenom. Der mittlere Durchmesser beträgt 0.9 mm. Durch die Expansion des Tumors ist die Struktur eher aufgelockert, aber der vorwiegend benigne Charakter bleibt durch die regelmässige Anordnung gleichartiger Zellen bestehen. Das Geschwulststroma wird vom Lungengewebe zur Verfügung gestellt (Abbildung 13 c2), d.h. die präexistenten Alveolarsepten tragen die Geschwulstzellen. So besteht einerseits noch die Grundstruktur des Lungengewebes, andererseits verraten die auskleidenden Zellen einwandfrei die Geschwulstnatur.

30 Wochen nach Urethangabe traten erstmals Tumore der Klasse C

auf. Es handelt sich um einen ganzheitlich aus zylindrischen Zellen bestehenden Tumor von lockerem papillärem Bau (Abbildung 13d). Er wird von uns als papilläres Zylinderzell-Adenom bezeichnet. Sein mittlerer Durchmesser beträgt 1.3 mm. Trotz der starken Komprimierung der Alveolen in der Randzone des Tumors fehlen eindeutige Malignitätsmerkmale.

40 Wochen nach Urethangabe wurde histologisch erstmals ein punkto Malignität intermediärer Tumor festgestellt, der von uns in die Klasse D eingereiht wurde und dessen Erscheinungsbild an ein Karzinoid erinnert. Wir bezeichnen ihn daher als Karzinoidtyp-Tumor (Abbildungen 13e und 13f). Seine Struktur ist adenomatös und eng papillär. Zwischen den soliden Tumorzellsträngen der Papillen liegen Zonen lockerer grosskerniger Zellen. Der Tumor hat einen mittleren Durchmesser von 2.6 mm und neigt zu Kernpolymorphie und Nekrose. Im Wesentlichen entspricht dieser Tumortyp bereits einer frühen Form des von ANDREWS et al.(1974) beschriebenen Bronchiolar-Karzinoms (Lungenadenomatose), nämlich durch seine periphere Lage, das multiple Auftreten, die scharfe Randbegrenzung, die kuboidalen bis zylindrischen Epithelzellen entlang den Alveolen, das gelegentliche Vorkommen zentraler Nekrose, die frei in den Alveolen liegenden Cluster von Tumorzellen und das seltene Auftreten weit gestreuter Metastasen (siehe unten). Diese oberflächliche Adenomatose ist weniger maligne als entsprechende bronchogene Neoplasmen.

Der in die Klasse E eingeordnete Tumor, der in unserem Experiment in der 50. Woche nach Urethangabe erstmals histologisch nachweisbar war, entspricht der eigentlichen Endform der Adenomatose und wird wegen seiner Herkunft hier Alveolarzell-Karzinom genannt. In der Humanmedizin sind neben dieser Bezeichnung auch die Ausdrücke "Lungenadenomatose", "Adenomatose" und "bronchioläres Karzinom" üblich. Es hat eine papilläre Struktur und wächst destruktiv mit partiellem oder totalem Befall des Lobus (siehe Abbildungen 13g und 13h). Der maligne Charakter des Tumors wird durch Hyperchromasie, starke Kernpolymorphie, Nekrosetendenz und destruktives Wachstum eindeutig belegt.

Generell kann gesagt werden, dass sich die Tumore der Klassen D und E unseres Experimentes in ihrem Erscheinungsbild, ihrer Kinetik und Malignität kaum von der menschlichen Lungenadenomatose unterscheiden. Bei 10% aller primären malignen Lungenneoplasmen des Menschen handelt es sich um gleiche Veränderungen (VON ALBERTINI, 1974). In der Regel wird die Erkrankung, deren Aetiologie, im Gegensatz zum bronchogenen Karzinom (Raucherkrebs), noch aussteht, beim Menschen erst in einem fortgeschrittenen Stadium entdeckt. Das geschlechtsunspezifische Durchschnittsalter des Auftretens liegt bei 58 Jahren, und die Überlebensprognose ist schlecht (ANDREWS et al., 1974). Es ist nicht auszuschliessen, dass auch beim Menschen Präkanzerosen existieren, die den Tumorklassen A bis C der Maus entsprechen, die aber so klein sind, dass sie weder Beschwerden verursachen, noch durch routinemässige Röntgendiagnostik entdeckt werden können.

Durch das eindeutige histologische Erscheinungsbild kann es auch ausgeschlossen werden, dass es sich bei dem Tumor, trotz seines bevorzugt subpleuralen Auftretens, nicht um ein Mesotheliom, d.h. ein Malignom pleuraendothelialer Genese handeln kann. Dazu sind die trabekulären Epithelverbände zu wenig aufgelockert, es fehlen die typischen spaltförmigen Hohlräume und der Tumor zeigt weder Zerfallstendenz noch übermässige Desquamation der Geschwulstzellen. Insbesondere fehlt auch die für Mesotheliome charakteristische starke Ausbildung eines faserreichen Stromas.

Eine Metastasierung des Tumors konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden. Zwar stellten wir in 4 von 160 untersuchten Urethan-behandelten Tieren zwischen der 50. und 60. Woche nach Urethan-Injektion im Lymphknotenbereich der Axilla subkutane neoplastische Knoten von 5-10 mm Durchmesser fest (siehe Abbildung 18), doch liessen die pleomorphen und stark dedifferenzierten Zellen keine eindeutigen Schlüsse bezüglich Herkunft zu. Zudem konnten nie eindeutige Gefässeinbrüche beobachtet werden, wobei die Beurteilung dieses Kriteriums gerade beim alveolären Bau der Lunge sehr schwierig ist, da man fast immer sehr nahe räumliche Beziehungen zu Blut- oder Lymphgefässen registrieren kann. Der Tumor verhält sich auch darin ganz ähnlich wie die Lungenadenomatose des Menschen. Unsere Vorstellungen über die

Urethan-induzierte Lungen-Karzinogenese (siehe Abbildung 15) haben sich histologisch bestätigt.

Primäre Neoplasmen auf anderen Organen sind praktisch nicht festzustellen und bleiben in der Grössenordnung des spontanen Auftretens. Lediglich ein Weibchen wies 40 Wochen nach Urethangabe ein Nieren-Cystadenom auf, und ein Männchen zeigte in der 30. Woche nekrotische Veränderungen des Leberparenchyms (s. Abbildung 18). Die Tumorinduktion ist demnach als hoch organspezifisch anzusehen.

Unsere Vorstellung über die Entstehung und Entwicklung Urethan-induzierter Lungentumore wird durch ultrastrukturelle Untersuchungen des Tumorgewebes gestützt. Der Tumor besteht aus einem einheitlichen Typ polygonaler Zellen von 9-11 Mikrometer Durchmesser, die an ihrer Oberfläche zahlreiche Mikrovilli aufweisen. Diese kommen jedoch wegen der dichten Zellanordnung nur an einzelnen, lockereren Kontaktstellen zwischen den Tumorzellen zum Ausdruck (Abbildung 20i). Eine gegenseitige Verzahnung der Microvilli zwischen den Tumorzellen, wie sie bei aggregierenden Alveolarmakrophagen zu beobachten ist (Abbildung 11), dürfte v.a. in einer frühen Phase der Tumorigenese den Zusammenhalt der transformierten Zellen gewähren.

Über das ganze Zytoplasma verteilt sind zahlreiche, oft vergrösserte Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum und Ribosomen (Abbildungen 20 a und 20 b).

Die auffallendsten zytoplasmatischen Strukturen sind jedoch stark osmiophile Körperchen, die in allen Tumorzellen vorhanden sind und die zweifelsfrei den "lamellar bodies" der Pneumozyten entsprechen (vgl. Abbildungen 20 a bis 20 d und Abbildung 10). Grundsätzlich lassen sich zwei Erscheinungsformen dieser Lamellarkörperchen beschreiben. Die einen sind eher klein, rundlich und weisen eine relativ homogene elektronendichte Struktur auf. Sie sind vorwiegend in der Zelle der Abbildung 20 a enthalten. Die anderen sind oft grösser, eher oval und weisen enge lamellenartige oder myelinähnliche Strukturen auf (s. Abbildung 20 k). Beide Arten von Zytoplasmaeinschlüssen sind von einer einfachen Membran umgeben.

Die Abbildungen 20 a bis 20 d verdeutlichen, dass es zahlreiche

Übergangsformen zwischen den beiden Typen von Körperchen gibt und dass sich die Dichte und das Erscheinungsbild der Lamellen je nach Schnittebene ändern kann. Es ist daher unwahrscheinlich, dass es sich um zwei distinkte Typen von Körperchen unterschiedlicher Genese handelt, wie dies früher beschrieben wurde (SVOBODA, 1962).

Über die Entstehung der Lamellarkörper gehen die Meinungen auseinander. Von den existierenden Theorien, die eine lysosomale Herkunft (GOLDFISCHER et al., 1968), eine Entstehung aus Mitochondrien (BUCKINGHAM et al., 1966) oder eine Umwandlung von Komplexen agranulären endoplasmatischen Retikulum (SOROKIN, 1966) postulieren, hat sich bis heute keine als eindeutig erwiesen.

Wesentlich aber ist die Tatsache, dass die chemische Zusammensetzung der Lamellarkörper in den Tumorzellen des Urethan-induzierten Lungenadenoms der Maus übereinstimmt mit jener der Pneumozyten-2, und zwar sowohl der Maus, wie auch der Ratte und des Kaninchens. Die Lamellarkörperchen enthalten hauptsächlich Phospholipide, v.a. Phosphatidylcholin. Experimentell konnte gezeigt werden (VOELKER, 1978), dass sich die Aktivität der Acetyl-CoA-Carboxylase in Pneumozyten-2 und in Adenomzellen durch Diätveränderungen auf vergleichbare Weise beeinflussen lässt. Damit ist ein weiterer Hinweis gegeben, dass es sich bei den Tumorzellen um transformierte Pneumozyten-2 handelt.

Eine weitere Eigenart, die die Tumorzellen aufweisen, ist das gelegentliche Vorkommen von inselartigen Zonen im Zytoplasma, mit einem Durchmesser von ca. 1 bis 1.5 Mikrometer. Diese von SVOBODA (1962) als "cytoplasmic lake" bezeichneten Strukturen sind von einer Membran umgeben und enthalten zahlreiche unregelmässige dichte Partikel unbekannter Natur, die in eine weniger dichte homogene Matrix eingebettet sind (Abbildungen 20 e und 20 f). Wegen der von SVOBODA beobachteten meist nahen räumlichen Beziehung zu Golgi-Vesikeln, ist es nicht ausgeschlossen, dass es sich um eine Ansammlung von Ribonukleoprotein-Partikeln handeln könnte. Ein viraler Ursprung ist nicht gegeben (HATTORI, 1965). Auf alle Fälle scheint es sich hier um das Ergebnis eines für die Tumorzelle spezifischen metabolischen oder degenerativen Vorgangs zu handeln.

Die Zellkerne der Tumorzellen enthalten einen singulären Nukleolus, in der Randzone dichtere und im Zentrum eher aufgelockerte Chromatinstrukturen und kontinuierliche Kernmembrane, die gelegentlich auftretende, tief in die Kerne hineinreichende Zytoplasma-Einstülpungen auskleiden (Abbildung 20 g). Diese zerklüftete Kernmorphologie führt offensichtlich dazu, dass intranukleäre Einschlüsse vorgetäuscht werden (siehe Abbildungen 20 h, 20 i und 20 k). Ein solches Bild ist leicht dadurch erklärbar, dass die Kerne hier senkrecht zu solchen Invaginationsachsen geschnitten sind. Die "Kerneinschlüsse" enthalten zytoplasmatische Komponenten, wie agranuläres endoplasmatisches Retikulum, vermutlich Ribonukleoprotein-Partikel und andere Zytoplasmastrukturen, wie osmiophile Körperchen unterschiedlicher Morphologie.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es sich bei den Urethan-induzierten Lungentumoren um eine primäre Lungen-Neoplasie handelt, die von den Pneumozyten-2 ausgeht. Der Tumor, der anfänglich, trotz fehlender Inkapsulierung, als eher gutartig bezeichnet werden sollte, neigt dazu, im Verlaufe der Zeit zunehmend maligne zu werden. Dadurch wird ein Stadium erreicht, das mit der menschlichen Lungenadenomatose (Alveolarzellkarzinom) vergleichbar ist.

3. MODIFIKATION DER URETHAN-WIRKUNG DURCH CHEMISCHE ZUSATZ-BEHANDLUNGEN UND DURCH GANZKÖRPER-RÖNTGENBESTRAHLUNG

3.1 ÜBERSICHT

Bei der Beurteilung gesundheitlicher Risiken durch die zunehmende Schadstoffbelastung der Umwelt nimmt die Chemokarzinogenese eine zentrale Stellung ein. Dabei sind Erkenntnisse über mögliche synergistische Wirkungen, die durch Ernährung, Medikamentation oder Umweltagentien auftreten können von besonderem Wert, da sie für die Prävention von unmittelbarer Bedeutung sind.

Zur Überprüfung potentieller krebsfördernder oder krebshemmender Eigenschaften solcher Agentien sind in vivo - Experimente nur dann aussagekräftig, wenn sie zusammen mit einem Karzinogen geprüft werden, dessen Induktionsqualität als zuverlässig, effektiv und organspezifisch eingestuft werden kann, wie dies für Urethan (vgl. Kapitel 2) gezeigt werden konnte. Zudem kann so der Aufwand an Versuchstieren auf ein vernünftiges Mass reduziert werden.

Untersuchungen über Interaktionen bestimmter Agentien mit der Wirkung von Karzinogenen sind meistens mit fraktionierten Behandlungen adulter Tiere gemacht worden. Um die Wirkung behandelte adulter Tiere mit derjenigen von Tieren vergleichen zu können, die bereits in utero durch entsprechende Behandlung der Mütter exponiert worden waren, sollte die Zusatzbehandlung einmalig und zeitlich genau definiert erfolgen.

Zusätzlich behandelt werden sollte ferner nicht vor, sondern nach der Urethangabe, damit sich die Ausgangslage für die Karzinogenwirkung nicht verändert, dafür aber die eigentliche Modifikatorwirkung während der Phase der eigentlichen Tumorfizierung erfasst werden kann. Damit bleiben die physiologisch-immunologischen Voraussetzungen für alle Experimente vergleichbar, ohne dass sich die Auswirkungen auf Induktion und Fixierung der Tumore gegenseitig verwischen.

Als Zeitpunkt für eine effektive Tumorinduktion in utero scheint bei Mäusen der 14. Gestationstag geeignet zu sein. Die spärlichen Untersuchungen auf diesem Gebiete zeigen, dass dieses Stadium sowohl für Röntgenstrahlen (VESSELINOVITCH, 1974) wie für diverse

karzinogene Substanzen (NOMURA, 1978) empfindlich ist. Die Untersuchungen von NOMURA zeigen zudem, dass die Tumorbildung in 14-Tag-Embryonen in den ersten 24 Stunden nach Urethan-Injektion fixiert wird, d.h. während der ersten DNS-Replikation nach der Karzinogengabe. Dies geht parallel mit der Reduktion der DNS-Aktivität, wie sie von THEISS und SHIMKIN (1978) beschrieben wird, die sich wenige Stunden nach Urethan-Injektion am stärksten auswirkt. Es ist daher sinnvoll, die einmalige Nachbehandlung mit potentiellen Modifikatoren etwa 6 Stunden nach Urethanadministration durchzuführen, um einerseits nicht allzu weit von den physiologischen Gegebenheiten des betroffenen Embryonalstadiums entfernt zu sein und andererseits zeitlich nahe dem Optimalbereich der Tumorfizierung zu liegen.

Die adulten Tiere wurden im Alter von 10 Wochen behandelt und die Auswertung erfolgte 20 Wochen später.

Die Behandlung in utero wurde am 14. Gestationstag durchgeführt und die Auswertung erfolgte 20 Wochen post partum. Die Frage der Teratogenität solcher über das Muttertier vorgenommener Behandlungsweisen wird im Kapitel 4 diskutiert.

Bei der Wahl der Zusatzbehandlungen standen Agentien im Vordergrund, mit denen ein häufiger und regelmässiger Kontakt gegeben ist. So entsprechen unseren Ernährungsgewohnheiten insbesondere Koffein und Vitamin C. Bei den umweltbedingten Einflüssen interessieren v.a. die ionisierenden Strahlen, insbesondere in niedrigen Dosisbereichen, für die gelegentliche biopositive Wirkungen (Hormesis) nicht ausgeschlossen werden können (LUCKEY, 1980). Des weitem wurde der häufig verwendete Antimalaria-Wirkstoff Chloroquin-diphosphat ("Resochin", Bayer) verwendet, da er, ähnlich wie Koffein, eine reparaturhemmende Wirkung auf die DNS ausübt (SIDEROPOULOS, 1980).

Koffein

Antineoplastische Eigenschaften von Koffein wurden verschiedentlich beschrieben. In vitro verhindert Koffein die Transformation von BALB/3T3-Mauszellen durch 4 Nitroquinolin-1-oxid (KAKUNAGA, 1975) und im Tierversuch kann es die karzinogene Wirkung von Zigarettenrauch-Kondensat auf die Maushaut (ROTWELL, 1974) und von Urethan auf die Lunge (NOMURA, 1977, 1978, 1980; THEISS und

SHIMKIN, 1978) deutlich herabsetzen. NOMURA erzielte in adulten ICR/Jcl-Mäusen die beste inhibitorische Wirkung bei einer Koffein-Applikation während der ersten 24 Stunden nach s.c. Urethan-Injektion von 1 mg/g Körpergewicht (KG). Während dieser Zeit wurde das Koffein wegen seiner kurzen biologischen Halbwertszeit von 3 Stunden (BURG und WERNER, 1972) im 6-Stunden-Intervall mit je 0.1 mg/g KG pro Fraktion mehrmals s.c. injiziert.

NOMURA (1978) führte zudem die einzigen uns bekannten entsprechenden Untersuchungen über die transplazentale Wirkungsweise von Koffein in Kombination mit Urethan durch, wobei hier die Koffein-Einzeldosen auf 0.01 mg/g Körpergewicht der Mutter reduziert wurden. 5 Monate später wiesen die so in utero behandelten Tiere eine mittlere Zahl von 0.5 Tumoren pro Lunge auf, gegenüber 1.6 Tumoren bei einer mit Urethan allein behandelten Kontrollgruppe.

THEISS und SHIMKIN (1978) fanden die grösste inhibitorische Wirkung bei zweimaliger Injektion von je 0.04 mg/g KG Koffein 3 Stunden vor und nach Urethan-Injektion. Hier wurde die Tumorzahl auf 67% derjenigen reduziert, die mit Urethan alleine erzielt wurde.

NOMURA schliesst aus seinen Beobachtungen, dass die Fixierung der Tumorentstehung in die erste postkarzinogene DNS-Replikation fällt. In Anlehnung an in vitro-Versuche mit Koffein an UV-bestrahlten Mauszellen (FUJIWARA und KONDO, 1972), betrachtet er Koffein als Inhibitor der postreplikativen Reparatur von durch Urethan gesetzten DNS-Läsionen und postuliert, dass dies zum Tod der potentiell neoplastischen Zellen und damit zu einer geringeren Manifestation führe.

Der von uns gewählte Zeitpunkt der Koffein-Injektion 6 Stunden nach Urethangabe entspricht der ersten der von NOMURA (1978) fraktioniert verabreichten Koffein-Administrationen. Die einmalige Behandlung erlaubt es, die transplazentale Wirkung mit jener im Adulttier zu vergleichen. Zudem soll es eine nach Geschlechtern getrennte Auswertung, die bei Nomura fehlt, erlauben, geschlechtsspezifische Unterschiede zu erfassen.

Vitamin C (Ascorbinsäure)

Im Zusammenhang mit Krebs spielt Vitamin C eine interessante Rolle: In Krebspatienten ist der Vitamin C-Gehalt des Tumorgewebes gegenüber demjenigen des gesunden Gewebes oft beträchtlich erhöht, bei gleichzeitig reduzierten Werten in den Leukozyten und im Blutplasma (FREEMAN und HAFKERSBRING, 1957; KAKAR und WILSON, 1974, 1975; ANTHONY und SCHORAH, 1982). Mit der Bekämpfung dieser Hypovitaminose, die das Immunsystem schwächt und damit dem Krebsgewebe bessere Wachstumschancen einräumt (DI PAOLA, 1977), erhoffte man, einen therapeutischen Gewinn zu erzielen. Durch Verabreichung von mehreren Gramm Vitamin C pro Tag schien denn auch die Ueberlebensdauer von Krebspatienten erhöht zu sein (CAMERON und PAULING, 1974, 1979). Neueste klinische Studien (MOERTEL et al., 1985) widerlegen jedoch die Befunde von Cameron und Pauling. Zudem liegen auch experimentelle Untersuchungen vor, die zeigen, dass Vitamin C das Krebswachstum auch fördern kann (MIGLIOZZI, 1977). Der Konsum von Vitamin C durch das intakte Krebsgewebe wurde anschaulich demonstriert an Patienten mit unterschiedlichen Malignomen, wo generell vor der Strahlentherapie die Ascorbinsäure-Werte in Leukozyten und Plasma drastisch reduziert waren, jedoch nach der Therapie innerhalb weniger Tage die Normwerte wieder erreicht waren (KAKAR, 1977).

Der mögliche therapeutische Gewinn scheint vor allem davon abhängen, ob es gelingt, dem Organismus gerade soviel Vitamin C zuzuführen, wie er durch den Verlust ans Krebsgewebe benötigt, um die komplexen Vorgänge des immunologischen Abwehrsystems aufrecht erhalten zu können.

Vitamin C kann von der Maus, im Gegensatz zu Primaten, auch selbst synthetisiert werden. Zusammen mit der Dehydroascorbinsäure nimmt es als Redoxsystem eine zentrale Stellung in Zellatmung, Intermediärstoffwechsel, Steroidbildung und im Aufbau biogener Amine ein (AMMON, 1974), weshalb es auch als Strahlenschutzstoff vorgeschlagen wurde (LOISELEUR et al., 1952). Eine Schutzwirkung von Vitamin C durch Herabsetzung der LD₅₀ nach Ganzkörperbestrahlung wurde mehrfach beschrieben (ALA-KETOLA, 1974; TEWFIK et al., 1977; KAKAR et al., 1977).

Die Kombination einer Ganzkörper-Röntgenbestrahlung trächtiger Mäuse am 8. Gestationstag mit einer einmaligen Injektion von

3.3 mg/g KG Vitamin C eine Stunde vor der Bestrahlung bewirkte eine deutliche Senkung der fetalen Missbildungsrate (RECHSTEINER, 1978). Ein Schutzeffekt von Vitamin C wurde auch gegenüber chemischen Teratogenen, wie Methylharnstoff und Natriumnitrit gefunden (ALEXANDROV et al., 1977).

Ueber modifizierende Eigenschaften der Ascorbinsäure im Zusammenhang mit der Chemokarzinogenese fehlen weitgehend Untersuchungen.

Chloroquin

Für den Antimalaria-Wirkstoff Chloroquin konnten antineoplastische Eigenschaften an Mamma-Ca-Implantaten in Mäusen nachgewiesen werden (SHOEMAKER, 1978, 1979). Zudem hemmt Chloroquin eine Reparatur UV-induzierter Schädigungen der DNS (SIDEROPOULOS, 1980).

Die meisten Untersuchungen der Wirkungsweise ähnlicher Antimalaria-Wirkstoffe, wie Chinin, Chloroquin, Primaquin, Quinacrin u.a., wurden in Zellkulturen untersucht und lassen sich nicht auf in vivo-Verhältnisse extrapolieren. Zudem stehen Untersuchungen über die transplazentale Wirkungsweise dieser Stoffe in Mäusen noch aus.

Es interessiert, inwiefern sich Stoffe, welche die Reparatur von DNS-Schäden in unterschiedlicher Weise beeinflussen (Koffein, Vitamin C, Chloroquin), auf die Tumorfizierung auswirken können.

Röntgenstrahlen

Modifizierende Effekte ionisierender Strahlen auf die Wirkung kanzerogener Stoffe wurden fast ausschliesslich an Adulttieren mit relativ hohen Strahlendosen untersucht. DIENER (1963) beschreibt zwar einen synkarzinogenen Effekt ionisierender Strahlen (31-MeV-Photonen) zusammen mit 2-Acetyl-Aminofluoren in 10 Tage alten Ratten-Embryonen, der mit steigender Strahlendosis abnimmt; daneben aber stehen Untersuchungen über die Wirkung von in utero-Bestrahlungen auf die transplazentale Chemokarzinogenese, insbesondere in unteren Dosisbereichen, noch aus.

Einerseits wurde festgestellt, dass sich durch Ganzkörperbestrahlungen mit 200 kVp-Röntgenstrahlen im Bereiche von 5 Gy subpleurale Lungentumore induzieren lassen, die sich histologisch kaum von den mit Urethan induzierten Tumoren unterscheiden (COGGLE und PEEL, 1978). Andererseits kann gerade eine mittels Knochenmarks-

transplantation ermöglichte Ganzkörperbestrahlung im paraletalen Bereich (5-9 Gy) der Tumorinduktion durch Urethan sehr effektiv entgegenwirken (FOLEY und COLE, 1966). Sie bringt eine Reduktion auf 59% der Anzahl Tumorträger, die normalerweise nach Urethanbehandlung auftreten.

Die Bestrahlung hat, gleich wie Koffein, nur dann eine signifikante inhibitorische Wirkung, wenn sie weniger als 24 Stunden nach der Urethangabe erfolgt und fällt bei Männchen effektiver aus, als bei Weibchen (BARTLETT, 1970).

Unsere Untersuchungen sollen zeigen, ob auch kleine Strahlendosen im Bereich von wenigen cGy, die von FOLEY und COLE bezüglich ihrer Modifikatorwirkung als unwirksam betrachtet werden, mit der Tumorinduktion durch Urethan in Wechselwirkung treten können. Es besteht die Möglichkeit, dass sich eine allfällige entsprechende Wirkung kleiner Dosen qualitativ von jenen im sogenannt wirksamen Bereich unterscheidet.

Wie bei den anderen Modifikatoren interessiert auch hier die Auswirkung auf die transplazentale Tumorinduktion.

3.2 MATERIAL UND METHODEN

Es wurden zwei Versuchsserien durchgeführt.

In der ersten (adult-Versuch) wurden Gruppen zu je 20 männlichen und 20 weiblichen Mäusen im Alter von 10 Wochen behandelt und 20 Wochen später untersucht, wie im Kapitel 2.2 beschrieben.

In der zweiten Serie (in utero-Versuch) wurden je 5 (für den Urethan-Kontrollversuch 10) Muttertiere pro Gruppe am Tag 14 der Gestation behandelt und die Nachkommen wurden 20 Wochen post partum untersucht.

Die Behandlungen bestanden für beide Serien in einer einmaligen i.p.-Injektion von 0.8 mg/g KG Urethan (Fluka AG) als 4%-Lösung in aqua redest. steril., gefolgt von folgenden Zusatzbehandlungen 6 Stunden nach Urethangabe:

- 0.06 mg/g KG Koffein i.p. als 0.2%-Lösung in NaCl isoton.
- 3.3 mg/g KG Vitamin C i.p. in Form von Redoxon-Injektionslösung 10% (Hoffmann-La Roche & Co. AG)

- 0.1 mg/g KG Chloroquin-diphosphat ("Resochin", Bayer) i.p. als 1%-Lösung in aqua redest. steril.
- Röntgenstrahlen (200 kVp); Filterung 1.0 mm Al + 0.5 mm Cu;
1.HWS = 0.92 mm Cu (Homogenitätsgrad: 0.55); Dosisleistung:
20.5 cGy/min und zwar als
Ganzkörperbestrahlung in folgenden Dosierungen:
 - 5 cGy
 - 20 cGy (nur in utero)
 - 100 cGy
 - 500 cGy (nur adult)

Die Kontrollgruppen erhielten:

- Urethan allein
- 0.85%-Lösung Natriumchlorid (gleiches Volumen wie Urethan)
6 Stunden nach Urethangabe (nur in utero)
- keine Behandlung
(Scheinbestrahlungen wurden keine durchgeführt)

Zudem wurden parallel zur 2. Versuchsserie sämtliche Modifikatoren als Kontrollversuch in utero allein verabreicht und entsprechend der 2. Versuchsserie ausgewertet.

Aus jeder Versuchsserie wurde eine zufällig getroffene Auswahl von Tumoren histologisch untersucht, um die Uebereinstimmung des Tumortyps mit der zugeordneten Grössenklasse zu verifizieren (s. Kapitel 2.3.2) und um festzustellen, ob durch die gewählten Zusatzbehandlungen neue Tumorspezies auftreten können.

3.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die histologische Beurteilung (siehe Tabelle 12) hat gezeigt, dass durch die unterschiedlichen Behandlungsweisen keine grundsätzlich voneinander verschiedenen Tumortypen induziert werden. Zudem stellte sich heraus, dass auch hier die Auswertung nach den im Kapitel 2 definierten Grössenklassen (Tabelle 10) sinnvoll ist, da sie das erreichte Entwicklungs- bzw. Malignitätsstadium zuverlässig repräsentieren.

3.3.1 Wirkung nach Behandlung adulter Tiere

Der Kontrollversuch (Urethan ohne Zusatzbehandlung) bestätigt bei adulten Tieren weitgehend die Resultate der im Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungen. Auch hier liegt bei den Weibchen die Zahl tumortragender Tiere (84%) leicht über jener bei Männchen (79%), und die mittlere Anzahl von 4.8 Tumoren pro Lunge ist etwas niedriger als bei den Männchen (5.2 Tumore). Dennoch lassen sich statistisch weder geschlechtsspezifische Unterschiede belegen, noch ergeben sich wesentliche Abweichungen zur früheren Untersuchung.

Die Resultate der Auswirkungen der Zusatzbehandlungen auf die Urethan- Karzinogenese sind in den Tabellen 13 a-b zusammengefasst und in den Abbildungen 22 und 23 grafisch veranschaulicht. Es ist daraus ersichtlich, dass sich die Zusatzbehandlungen bei adulten Tieren nicht wesentlich auf die Anzahl tumortragender Tiere auswirken, aber dass vor allem die Tumorfrequenz beeinflusst wird (Abbildung 22). Mit Ausnahme von Koffein in weiblichen Tieren, führen sämtliche Zusatzbehandlungen zu einer Reduktion der Tumorfrequenz, die sich bei den Männchen stärker auswirkt, als bei den Weibchen. Dass sich die Unterschiede nur selten statistisch sichern lassen, ist einerseits der relativ geringen Zahl von Versuchstieren zuzuschreiben, andererseits auch der kritischen Wahl des statistischen Analyseverfahrens, das auf Grund konsequenter Beachtung der geforderten parametertrischen Voraussetzungen getroffen wurde. Der Befund erhält aber durch die Tatsache Gewicht, dass die Tendenz der Frequenzerniedrigung auch nach transplazentaler Behandlung (siehe Kapitel 3.3.2) festzustellen ist, wo sich dank der grösseren Versuchstierzahl die Aussage statistisch besser absichern lässt. Immerhin ist es bemerkenswert, dass durch die Zusatzbehandlungen bei Männchen im ungünstigsten Fall ein Rückgang der Frequenz auf 56% und bestenfalls auf 23% des Kontrollwertes zu verzeichnen ist. Bei den Weibchen ist die Reduktion auf Werte zwischen 38% und 75% der Kontrolle etwas geringer.

Chemikalien

Bei der Untersuchung der Beeinflussung der Tumorfrequenz durch chemische Zusatzbehandlungen ergibt sich für beide Geschlechter durch Vitamin C grösste Modifikationswirkung, wobei die Tumorzahl auf 35% (Männchen) resp. 48% (Weibchen) des Kontrollwertes reduziert ist. Würde man der auf dem Gebiet der experimentellen Karzinogenese eher üblichen Anwendung einer parametrisch-statistischen Methode folgen, so liesse sich etwa im t-Test diese drastische Reduktion als gesichert signifikant bezeichnen. Die Datenverteilung (Abbildung 21) zeigt jedoch, dass weder für adult noch in utero erzeugte Tumore die Frequenzwerte normalverteilt sind und somit auf parametrischer Statistik aufbauende Tests nicht zulässig wären. Dennoch wurden auch solche Testergebnisse in die Tabelle 13 aufgenommen, um einen Vergleich mit den aus der Literatur bekannten Angaben zu ermöglichen. Massgebend für unsere Beurteilung ist der verteilungsunabhängige U-Test nach MANN und WHITNEY, nach dem der Unterschied zur Kontrolle als nicht signifikant angesehen werden muss. Immerhin ermutigen die Ergebnisse, Vitamin C weiterhin auf seine bisher kaum untersuchte antikarzinogene Eigenschaft zu prüfen (s. auch Kapitel 3.3.2).

Bei den anderen chemischen Zusatzbehandlungen weist Chloroquin mit 40% des Kontrollwertes (Männchen) resp. 69% (Weibchen) die zweitbeste Inhibitionswirkung auf. Das an dritter Stelle stehende Koffein zeigt nur bei Männchen eine Reduktionswirkung auf 42% der Kontrollfrequenz, während bei den Weibchen eine Modifikationswirkung ausbleibt. Immerhin liegt dieser Wert wesentlich tiefer als jener von THEISS und SHIMKIN (1978), die, allerdings bei einer doppelt so grossen Gruppe ebenfalls männlicher Stamm-A-Mäuse, eine statistisch signifikante Herabsetzung der Tumorfrequenz auf 67% des Kontrollwertes beschreiben, allerdings ohne Angaben über die angewendete Statistik zu machen.

Für alle chemischen Zusatzbehandlungen ist eine leichte Abnahme der mittleren Tumorgrösse zu verzeichnen, die für die Weibchen im Falle von Vitamin C ($p < 0.05$) und Chloroquin ($p < 0.02$) im statistisch signifikanten Bereich des U-Test liegt. Dies ist v.a. auf die prozentuale Erhöhung des Anteils an Tumoren der Grössenklasse 1 bzw. des Tumortyps A zurückzuführen (vgl. Abbildung 23). Zur Interpretation dieser Befunde sollte berücksichtigt werden,

dass die Zusatzbehandlungen 6 Stunden nach der Urethaninjektion in eine vermutlich für die Transformation wichtige Phase fallen: Zum einen geht Urethan bereits kurze Zeit nach der Injektion eine stabile Verbindung mit der Lungen-DNS ein, die ihr Maximum 12 Stunden nach Administration erreicht (BHIDE et al., 1971); zum anderen wird Urethan im Körper adulter Mäuse rasch abgebaut, so dass 6 Stunden nach Injektion bereits 75% der Urethan-Metaboliten ausgeschieden sind (BOYLAND und NERY, 1965; MIRVISH et al., 1968). Eine Modifikationswirkung kann zum gewählten Zeitpunkt grundsätzlich auf zwei Ebenen erfolgen: Entweder kann sie die primäre karzinogene Wirkung von Urethan direkt verändern, oder sie wirkt sich auf primär erfolgte Urethan-bedingte Veränderungen in potentiellen Krebszellen aus. Dabei kann eine Förderung der Reparaturvorgänge, die zur Behebung des Schadens führt ebenso in Frage kommen, wie eine Hemmung derselben, die zum Tod der Zelle führen kann.

Was die direkte Wechselwirkung mit Urethan anbelangt, so ist von Koffein bekannt, dass es mit einigen Karzinogenen, wie Benzpyren, Benzcarbazolen, Dibenzacridinen und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen leicht Bindungen eingeht und sie dadurch in ihrer Wirksamkeit beeinflusst (BOOTH und BOYLAND, 1953).

Auf Grund unserer autoradiographischen Untersuchungen (siehe Kapitel 5) ist anzunehmen, dass die Modifikationswirkung eher auf dem Niveau der Beeinflussung transformierter Zellen zu suchen ist. Auch dabei sind grundsätzlich zwei Möglichkeiten denkbar, nämlich dass entweder das Ausmass der Urethan-DNS-Wechselwirkung durch die Zusatzbehandlung herabgesetzt wird, oder dass die Reparaturvorgänge der durch Urethan verursachten Veränderungen des genetischen Materials beeinflusst werden.

Für das Zustandekommen einer Wechselwirkung zwischen Urethan und der DNS ist die DNS-Syntheseaktivität ein wesentlicher Faktor. (LAWSON und POUND 1973). Eine Herabsetzung der DNS-Syntheseaktivität durch die gewählten chemischen Zusatzbehandlungen, wie sie im Falle von Koffein beschrieben wurde (THEISS und SHIMKIN, 1978), hätte eine Einschränkung der Bindungswahrscheinlichkeit von Urethan an die Lungen-DNS und damit eine geringere Zahl potentieller Krebszellen zur Folge.

Was die Reparatur anbetrifft, so wird aber gerade für Koffein die

antikarzinogene Wirkung gerne darauf zurückgeführt, dass es die postreplikative Reparatur der durch karzinogene Stoffe geschädigten DNS verhindert. Dadurch können die zum Ueberleben auch für die potentiellen Krebszellen nötigen, Reparaturvorgänge (Misrepair) nicht ablaufen, was zu ihrem Absterben und damit zum Ausbleiben der Tumorentwicklung führt (KAKANUGA, 1975; NOMURA, 1976,1977).

Für die antikarzinogene Wirksamkeit von Chloroquin dürften ähnliche Mechanismen in Frage kommen, da es gegenüber der Reparatur UV-induzierter DNS-Schädigung in Bakterien eine mit Koffein vergleichbare Hemmwirkung zeigt (SIDEROPOULOS, 1980).

Es ist denkbar, dass die Wirkung der chemischen Modifikatoren nicht nur auf einem, sondern auf mehreren dieser Mechanismen beruht, die von Fall zu Fall verschieden sind. Dadurch kann sich je nach Zusatzbehandlung auch die proliferative Kapazität der betroffenen Zellen ändern, was in der Tumorgrössen-Verteilung zum Ausdruck kommt, jedoch in den uns bekannten Studien nie berücksichtigt wird. Dieses Phänomen ist insbesondere bei den in utero behandelten Männchen zu beobachten und wird im Kapitel 3.3.2 diskutiert.

Bestrahlung

Die Beeinflussung der Urethan-Adenomagenese durch Ganzkörperbestrahlung kommt, wie bei der chemischen Zusatzbehandlung, am deutlichsten bei der Tumorfrequenz zum Ausdruck. Erstaunlicherweise kann bereits eine Dosis von 5 cGy die Tumorzahl bei Männchen auf 48% und bei Weibchen auf 75% des Kontrollwertes für alleinige Urethanbehandlung reduzieren. Wenn sich auch die Resultate im U-Test nicht statistisch sichern lassen, so unterscheiden sie sich doch wesentlich von jenen ähnlicher Versuche von FOLEY und COLE (1963,1964,1966), die mit Dosen unterhalb 300 cGy in männlichen (C571xA)-Mäusen keinerlei modifizierende Wirkung finden. Die Kombination mit 100 cGy reduziert auch für die Weibchen die mittlere Tumorzahl auf 46% des Kontrollwertes (Männchen 56%). Diese Werte liegen in der Grössenordnung, wie sie FOLEY und COLE nach zusätzlicher Bestrahlung mit 500 cGy festgestellt haben. Die Verteilung der Grössenklassen (Abbildung 23) unterscheidet sich für die Zusatzbehandlung in diesem Dosisbereich

nicht wesentlich von jener der Kontrollbehandlung, so dass angenommen werden kann, dass die zusätzliche Bestrahlung vor allem primäre Ereignisse an den durch Urethan veränderten Targets ausübt.

Durch eine Ganzkörperbestrahlung mit 500 cGy wurde, was die Tumorfrequenz betrifft, die stärkste Beeinflussung der Urethan-Karzinogenese bei adulten Mäusen erzielt. Die drastische Reduktion der Tumorzahl auf 38% der Kontrolle bei den Weibchen und auf 23% bei den Männchen kann einerseits bedingt sein durch eine synergistische Wirkung von Urethan und Bestrahlung, die zum Tod potentieller Krebszellen führt, wie auch durch eine strahlenbedingte Störung der für die Transformation nötigen Reparaturvorgänge (error prone repair). Die gegenüber der Kontrollbehandlung und den anderen Zusatzbehandlungen deutlich veränderte Verteilung der Grössenklassenanteile bei den Männchen lässt vermuten, dass durch höhere Strahlendosen ebenfalls Tumore mit einer von Urethan-induzierten Neoplasmen unterschiedlichen Wachstumskinetik induziert werden. Kontrollversuche mit Bestrahlung allein wurden nur in utero durchgeführt, was die Interpretation etwas erschwert. Immerhin ist bekannt (COGGLE und PEEL, 1978), dass die Dosis-Wirkungs-Beziehung für die strahlenbedingte Induktion von Lungentumoren in Mäusen durch eine sogenannte Buckel-Kurve beschrieben werden kann, d.h. die dosisabhängige Zunahme der Wahrscheinlichkeit einer Zelle, Schäden zu erleiden, die zur Transformation führen, erfährt einen Wendepunkt, der mit dem Tod der potentiellen Krebszellen erklärt wird. Dabei liegt das Maximum der Induktion im Dosisbereich um 500 cGy, während mit Dosen unter 200 cGy resp. über 700 cGy Tumorraten erzielt werden, die sich nicht wesentlich vom Kontrollwert, d.h. von der Spontanrate, unterscheiden.

NMRI-Mäuse sind strahlenresistenter als Mäuse der meisten anderen Zuchtlinien, so dass sich der zusätzliche Schutz durch Knochenmarkstransfusionen erübrigt. Keines der Versuchstiere starb an den Folgen der Bestrahlung. Die Dosis von 500 cGy scheint dabei nahe des Schwellenwertes zu liegen, oberhalb dem die Mortalität rasch ansteigt. Die $LD_{50/30}$ liegt im Bereich zwischen 600 und 700 cGy, wobei nach RAO und FRITZ-NIGGLI (1984) eine Ganzkörper-Röntgenbestrahlung von 600 cGy zu lediglich 10% Todesfällen

führt, während die Letalität nach einer Erhöhung der Dosis auf 700 cGy bereits bei 80% liegt.

3.3.2 Wirkung nach Behandlung in utero

Vorgängig einer detaillierteren Analyse der Wirkung der Zusatzbehandlungen auf die Urethan-Karzinogenese ist hervorzuheben, dass sich die transplazentale Tumorinduktion grundsätzlich von jener in Adulttieren unterscheidet (vgl. Tabellen 13 a-b mit Tabellen 13 c-e). Es handelt sich dabei im wesentlichen um zwei Charakteristika:

Zum ersten ist die Urethan-Induktion viel weniger effektiv als bei Adulttieren, sowohl was die Prävalenz, wie die Frequenz anbetrifft, und zum zweiten treten bei den in utero behandelten Nachkommen der selben Mütter eindeutige geschlechtsspezifische Unterschiede auf.

Der Anteil tumortragender Tiere entspricht bei den Männchen mit 61% etwa zwei Dritteln und bei den Weibchen mit 45% etwa der Hälfte jener Zahl, die bei adulten Tieren erwartet wird.

Die Tumorfrequenz ist im Vergleich zu adult behandelten Tieren noch stärker herabgesetzt und zwar um den Faktor 4.6 für Männchen (von 5.2 auf 1.13 Tumore pro Lunge) und um den Faktor 8 für Weibchen (von 4.8 auf 0.59 Tumore pro Lunge). In utero behandelte Weibchen weisen damit nur etwa halb so viele Tumore auf, wie entsprechend behandelte Männchen.

Dabei weisen die Tumore der Weibchen eine relativ gleichmässige Verteilung auf die Grössenklassen 1-4 auf (Abbildung 25), während bei den Männchen die unterste Grössenklasse eindeutig dominiert. Diese Tumorklasse beinhaltet offensichtlich die gegenüber den Weibchen vermehrt vorkommenden Tumore. Die geschlechtsspezifisch erhöhte Wirksamkeit der Urethanbehandlung könnte insofern eine Erklärung für dieses Phänomen liefern, als angenommen werden kann, dass nicht nur mehr Zellen von der Urethan-Wirkung betroffen sind, sondern auch ein Teil der Tumor-Ausgangszellen stärker geschädigt wird, als bei den Weibchen. Dies könnte komplexere Reparaturvorgänge bedingen, die störanfälliger sind, die Erholung erschweren und zu einer Verlangsamung oder gar zum Stillstand der Progressionsvorgänge und damit zu kleineren Tumoren führen können. Daneben dürften auch hormonelle Unterschiede für die Ge-

schlechtsspezifität der Reparaturvorgänge mit verantwortlich sein.

Die Ergebnisse der Modifikation der Urethan-Wirkung in utero sind in den Tabellen 13 c (Männchen) und 13 d (Weibchen) zusammengestellt. Tabelle 13 e zeigt die Resultate bei einem geschlechtsunabhängigen Zusammenzug aller in utero behandelten Tiere. Diese Darstellung hat jedoch nur im Vergleich mit Angaben aus der Literatur ihre Berechtigung, wo unverständlicherweise oft auf eine geschlechtsgetrennte Auswertung verzichtet wurde.

Abbildung 24 veranschaulicht, dass die durch die Zusatzbehandlungen bedingten Veränderungen für Prävalenz und Frequenz gleich gerichtet sind, d.h. dass eine Senkung der Anzahl Tumorträger einher geht mit einer gleichzeitigen Senkung der Tumorzahl, und umgekehrt.

Generell kann gesagt werden, dass die Zusatzbehandlungen in utero nur bei Männchen wirksam zu sein scheinen und zwar in dem Sinne, dass Prävalenz und Frequenz herabgesetzt werden, bei gleichzeitig vergrößertem mittlerem Tumordurchmesser (mit Ausnahme von 100 cGy).

Wenn wir uns nachfolgend v.a. mit den Untersuchungsergebnissen der Befunde bei Männchen befassen, so ist zur Reaktion der in utero behandelten Weibchen immerhin festzuhalten, dass hier bezüglich Tumorfrequenz Vitamin C wiederum die deutlichste Wirkung zeigt und eine Herabsetzung auf 66% des Wertes für Urethan allein bewirken kann. Die anderen Zusatzbehandlungen haben geringere Auswirkungen, zeigen aber, mit Ausnahme der Bestrahlung mit 100cGy, stets eine Frequenz-senkende Tendenz. Bei der leichten Frequenzsteigerung durch die Zusatzbehandlung mit 100 cGy ist zu berücksichtigen, dass in weiblichen Feten bereits die alleinige Bestrahlung mit einer Dosis von 100 cGy als tumorigen angesehen werden muss (s. Abbildung 26). Das Kontrollexperiment hat zudem gezeigt, dass alle anderen Zusatzbehandlungen allein appliziert nicht tumorauslösend sind, d.h. dass sich die Tumorrates nicht signifikant von der Spontanrate unterscheidet. Dabei ist bei den männlichen Feten die Tendenz nicht zu übersehen, dass die chemischen Kontrollbehandlungen (Vitamin C, Chloroquin und Koffein) die Tumorrates unter den Wert der Spontanrate

absinken lassen, wogegen die Kontrollbestrahlungen die Tumorrates eher anheben.

Chemikalien

Nach chemischen Zusatzbehandlungen zeigt sich bei den in utero behandelten Männchen -wie bei den Adulttieren- dass Chloroquin und Vitamin C die Urethanwirkung statistisch signifikant reduzieren. Dies kommt nicht nur in der Frequenzerniedrigung auf 38% bzw. 47% des Kontrollwertes zum Ausdruck, sondern, im Gegensatz zu adult behandelten Tieren, auch in der Prävalenz, wo nur etwa halb so viele Tumorträger zu verzeichnen sind, wie nach alleiniger Urethanbehandlung. Diese Ergebnisse bestätigen die im Adulttier gemachten, statistisch allerdings nicht gesicherten Beobachtungen und Vermutungen, dass diese bisher nicht in dieser Hinsicht untersuchten Stoffe antikarzinogene Eigenschaften aufweisen.

Für Koffein lässt sich dagegen bei den in utero behandelten Männchen keine statistisch signifikante Modifikationswirkung nachweisen. Bei einer der Untersuchungen von NOMURA (1978) entsprechenden geschlechtsunabhängigen Berücksichtigung aller in utero behandelten Nachkommen zeigt es sich, dass die Modifikationswirkung wohl gleich gerichtet, jedoch in abgeschwächter Form festzustellen ist. Dieser Unterschied kann auch in dem von Nomura unterschiedlichen einmaligen Verabreichungsmodus begründet sein. Die Prävalenz wurde auf 90% (Nomura: 65%) und die Frequenz auf 72% (Nomura: 31%) des Kontrollwertes gesenkt.

Die allgemeine Tendenz, durch die chemischen Zusatzbehandlungen die Tumorzahl auf Kosten der kleineren Tumore einzuschränken (siehe Größenklassen-Verteilung in Abbildung 25), bestätigt die Annahme, dass hier v.a. die Reparatur komplexer Schäden, die zu verlangsamten Progressionsvorgängen und damit zu kleineren Tumoren führen, gestört wird.

Bestrahlung

Die Urethan-Adenomagenese in utero wird durch Ganzkörperbestrahlung der Mütter nur mit den relativ kleinen Strahlendosen von 5 resp. 20 cGy markant und statistisch sicherbar beeinflusst. Die Modifikationswirkung liegt für beide Dosisbereiche in vergleich-

barem Rahmen (s. Abbildung 24) und äussert sich in der Herabsetzung der Tumorprävalenz auf etwa die Hälfte jener der Kontrolle. Die Tumorfrequenz wird auf 35% (5 cGy) bzw. 42% (20 cGy) des Kontrollwertes reduziert.

Umso erstaunlicher ist es dabei, dass sich die Tumorgrössen-Verteilung für diese beiden Zusatzbehandlungen derart deutlich unterscheidet (s. Abbildung 25): Durch zusätzliche Bestrahlung mit 5 cGy entstehen bevorzugt kleine Tumore, d.h. die Progressions- und Differenzierungsvorgänge scheinen gehemmt zu werden. Eine zusätzliche Strahlendosis von 20 cGy führt dagegen bevorzugt zu grösseren Tumoren, was eine gegenüber der Kontrolle gesteigerte Proliferationsfähigkeit der Tumore bedeuten würde. Interessanterweise ist dann die Grössenverteilung bei der nächsthöheren Strahlendosis von 100 cGy wiederum nach unten verschoben und zwar noch deutlicher, als dies für 5 cGy der Fall war.

In die strahlenbedingte Reduktion der Qualität Urethan-induzierter Lungentumore sind demnach unterschiedliche Mechanismen involviert, die je nach Dosis der Zusatzbehandlung unterschiedlich aktiviert bzw. unterdrückt werden können. So wäre es etwa denkbar, dass eine mit zunehmender Strahlendosis gesteigerte Aktivierung von Reparaturvorgängen in einem bestimmten Dosisbereich den Kombinationswirkungen von Urethan und Strahlung optimal entgegen wirken könnte, jedoch sowohl überlagert wird von einer ebenfalls dosisabhängigen strahlenbedingten Neuinduktion von Tumoren, wie auch von einer mit zunehmender Dosis ebenfalls grösser werdenden Wahrscheinlichkeit des Todes potentieller Krebszellen, verbunden mit der Unterdrückung von Misrepair-Mechanismen. Solche sich überlagernde Mechanismen festzustellen und die daraus resultierenden Verteilungsmuster zu interpretieren, bedürfte wesentlich grösserer und komplexerer Studien. Insbesondere liefern die vorliegenden Untersuchungen auch keinen zwingenden Beweis dafür, dass der Grund für die unterschiedliche Tumorgrössen-Verteilung bei den Induktions- und Reparaturvorgängen an der zu transformierenden Tumor-Ursprungszelle zu suchen ist. Da die für jede Serie untersuchten Nachkommenkollektive auf jeweils 5 Mütter zurückzuführen sind, ist es vorstellbar, dass sich genetisch bedingte Faktoren einer einzelnen Mutter, die die Progressions- und Differenzierungsvorgänge der neoplastischen

Veränderungen beeinflussen, bereits in 20% der Nachkommen manifestieren können und damit für solche Verschiebungen verantwortlich sein können.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sämtliche von uns gewählten Zusatzbehandlungen 6 Stunden nach Urethangabe die Tumorinduktion in negativem Sinne beeinflussen. Dabei sind geschlechtsspezifische Unterschiede zu verzeichnen, wobei die grösste Inhibitionswirkung bei in utero behandelten Männchen erzielt werden kann. Dabei sind insbesondere kleine Strahlendosen im Bereich von 5-20 cGy wirksam. Bei den chemischen Zusatzbehandlungen zeigen Vitamin C und Chloroquin, sowohl transplazental, wie bei Adulttieren, deutliche antikarzinogene Eigenschaften. Es ist anzunehmen, dass durch eine mehrfache Zusatzbehandlung, auf die hier aus methodischen Gründen verzichtet wurde (s. 3.1) noch effektivere Resultate hätten erzielt werden können.

Dass sich die Tumorinduktion durch keine der Zusatzbehandlungen steigern liess, mag darauf hinweisen, dass es sich bei Urethan um ein echtes Karzinogen ("ultimate carcinogen") handeln dürfte. Eine Promotion der Karzinogenwirkung von Urethan wurde bisher lediglich für butyliertes Hydroxytoluen (BHT) beschrieben (MALKINSON, 1983), jedoch sind die Ergebnisse insofern vorsichtig zu interpretieren, als BHT per se ebenfalls, wenn auch nur in beschränktem Mass, Lungentumore induzieren kann (WILTSCHI et al., 1981). Im Sinne einer Verbesserung unseres Systems wäre es jedoch von Interesse, BHT in künftige Studien einzubeziehen und abzuklären, ob die von uns festgestellte pathologische Einheitlichkeit des Systems dadurch nicht gestört wird.

4. TERATOGENITÄTSABKLÄRUNG FÜR DIE GEWÄHLTEN BEHANDLUNGSWEISEN

4.1 EINLEITUNG

Im Zusammenhang mit der im Kapitel 3 dargestellten in utero-Induktion von Lungentumoren mittels Urethan und ihren Beeinflussungsmöglichkeiten interessieren auch allfällige teratogene Wirkungen der gewählten Behandlungsweisen.

Zum einen gilt es abzuklären, ob durch die Behandlung fetale Letalität induziert wird, die zu einer vorgeburtlichen Selektion führen und damit die Erfassung der Tumorinduktion beeinflussen könnte. Zum andern interessiert es, inwiefern Behandlungsweisen mit potenter Karzinogenwirkung auch Missbildungen auslösen, da beide Effekte unter anderem auf der Proliferation einer oder weniger veränderter Ausgangszellen beruhen können.

Für unsere Untersuchungen interessiert jener Zeitpunkt, der für die in utero ausgelöste Karzinogenese gewählt worden war, nämlich der 14. Gestationstag, entsprechend etwa der 6.-7. Schwangerschaftswoche beim Menschen (RUGH, 1968). Dies bedeutet jedoch, dass zu diesem für die transplazentale Wirkung von Karzinogenen bei der Maus optimalen Zeitpunkt (NOMURA, 1977, 1978) die Organogenese, die für die Induktion von morphologisch fassbaren Entwicklungsstörungen besonders anfällig ist, praktisch abgeschlossen ist. Es ist demzufolge mit einer relativ geringen Schädigungsrate zu rechnen. Dies ist auch der Grund, weshalb üblicherweise Teratogenitätsanalysen bei Kleinsäugetern zwischen dem 8. und 13. Schwangerschaftstag durchgeführt werden. Vergleichsmöglichkeiten zu anderen Untersuchungen fehlen daher weitgehend.

Nach RUGH (1968) werden am 14. Gestationstag hauptsächlich Störungen im Bereich des Gehirns, der Kopforgane und der Extremitäten induziert.

Urethan kann, während der Organogenese verabreicht, zu Skelettschäden und zu Wolfsrachen führen (NISHIMURA und KUGINUKI, 1958) und überdies zu Polydaktylie und Schwanzanomalien (NOMURA, 1977). Letztere Veränderungen liessen sich durch wiederholte Koffein-Injektionen während der ersten 24 Stunden nach der Karzi-

nogengabe am 10. Tag der Schwangerschaft drastisch reduzieren (NOMURA, 1978).

Weitere Untersuchungen über modifizierende Eigenschaften zusätzlicher Behandlungen auf die Urethan-Teratogenese sind nicht bekannt.

Für die alleinige Anwendung der von uns als Modifikatoren gewählten Behandlungsweisen werden nur selten teratogene Effekte beschrieben.

Die einzige durch Chloroquin ausgelöste fetale Störung scheint Mikrophthalmie zu sein, die am Tag 9 der Schwangerschaft in Ratten bewirkt wurde, welche die zehnfache der von uns gewählten Dosis (1000 mg/kg) i.p. erhielten (UDALOVA, 1967).

Während LOOSLI et al. (1964) in Mausfeten, die während der Organogenese Koffein erhielten, keinerlei Veränderungen feststellten, beschrieben NISHIMURA und NAKAI (1960) v.a. digitale Defekte und Wolfsrachen.

Die teratogene Wirkung kleiner Strahlendosen zwischen 5 und 20 cGy ist bei Mäusen am 14. Gestationstag gering. Erst Dosen ab 25 cGy haben Wachstumsverzögerungen, v.a. im Gehirn und im übrigen zentralen Nervensystem zur Folge (HAYASHI et al., 1979, 1981; HOSHINO et al., 1980, 1981; BRIZZEE und BRANNON, 1972). Während der Organogenese können jedoch bereits durch 5 cGy Skelettanomalien erzeugt werden (JACOBSEN, 1965, 1968), und eine Erhöhung der Gesamtschädigungsrate ist bereits nach einer Strahlendosis von 1 cGy feststellbar (MICHEL und FRITZ-NIGGLI, 1977).

4.2 MATERIAL UND METHODEN

Als Muttertiere dienten 10 Wochen alte NMRI-Mäuse aus der Zucht Tuttlingen; die Männchen stammten aus der selben Auszucht-Linie. Die Paarung erfolgte nachts zwischen 1900 und 0700 Uhr und konnte am nächsten Morgen durch Prüfung der Weibchen auf die Existenz eines Vaginalpfropfes nachgewiesen werden. Für Weibchen, bei denen die Kontrolle positiv ausfiel, wurde dieser Zeitpunkt als "Tag 0" der Schwangerschaft bezeichnet.

Die Behandlung der Muttertiere erfolgte am Tag 14 der Gestation nach den im Kapitel 3.2 beschriebenen Methoden und Dosierungen und zwar in 14 Gruppen zu jeweils 10 Weibchen für die folgenden Behandlungsweisen:

- Gruppen 1-7 (Modifikatoren allein):

Vitamin C; Koffein; Chloroquin-diphosphat; 5 cGy Röntgenstrahlen; 20 cGy Röntgenstrahlen; Natriumchlorid isoton. (Kontrolle 1); keine Behandlung (Kontrolle 2).

- Gruppen 8-14 (Urethan kombiniert mit Modifikatoren):

Urethan und Vitamin C; Urethan und Koffein; Urethan und Chloroquin-diphosphat; Urethan und 5 cGy Röntgenstrahlen; Urethan und 20 cGy Röntgenstrahlen; Urethan und Natriumchlorid isoton. (Kontrolle 1); Urethan ohne Zusatzbehandlung (Kontrolle 2)

Am Tag 18 wurden die Muttertiere getötet, die Feten gewogen und auf äusserlich sichtbare Anomalien, v.a. der Kopfregion und der Extremitäten beurteilt. Zudem wurde die Anlage der inneren Organe unter einer Binokularlupe beurteilt. Anschliessend wurden die Feten in Bouin fixiert und zu einem späteren Zeitpunkt wurde die Kopfregion genauer untersucht. Dazu wurde jeweils ein Transversalschnitt zur Feststellung von Veränderungen im Kieferbereich (Wolfsrachen) und ein Frontalschnitt zur Beurteilung der Augenanlage (Mikrophthalmie) durch den Kopfbereich geführt (Wilson-Technik nach WILSON und WARKANY, 1965; s. Abbildungen 27 b und c).

Als Referenzmass für die Grösse der Augenanlage wurde der mittels einer Messlupe ermittelte grösste Durchmesser, der die Retina als äusserste Begrenzung einschliesst, gewählt (s. Abbildung 27 b). Er beträgt für die unbehandelten Tiere im Mittel 1.4 Millimeter, bei einer Streuung (Standardabweichung) von 0.06 Millimetern. Für Feten mit Augenanlagen, deren Durchmesser um das Dreifache dieses Streuungswertes kleiner waren als jene der Kontrolle, d.h. den Wert von 1.22 Millimeter unterschritten, wurde das Vorliegen einer Mikrophthalmie als erwiesen erachtet.

4.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Resultate unserer Untersuchungen sind in Tabelle 14 und Abbildung 28 zusammengefasst.

Für keine der gewählten Behandlungsweisen war eine eindeutige Letalitätssteigerung zu verzeichnen. Die Sterblichkeitsrate zwischen dem 14. und 18. Tag der Fetalentwicklung lag generell tief und unterschied sich mit einem maximal erreichten Wert von 1.6% nicht signifikant von der spontan auftretenden Letalität.

Die frühembryonale Sterblichkeit, die zur Resorption führt, unterliegt einer relativ grossen Schwankung der Muttertiere. Sie beträgt für unbehandelte Tiere der von uns verwendeten NMRI-Zuchtlinie im Mittel etwa 6%. Der etwas höhere Wert für die mit Urethan behandelten Tiere ist rein zufällig und steht nicht im Zusammenhang mit der Behandlung. Diese erfolgte zu einem Zeitpunkt (Tag 14) zu welchem die absterbende Frucht nicht mehr vollständig resorbiert wird, wie dies bis zum 11. Gestationstag der Fall ist. Das Kriterium der frühembryonalen Letalität wurde daher nicht in unsere Auswertungen einbezogen.

Wie zu erwarten war, ist die Teratogenität der Behandlungen im gewählten Stadium der Fetalentwicklung nicht ausgeprägt und auf die Induktion einiger weniger Schädigungstypen beschränkt. Die häufigste Veränderung ist das Auftreten von Polydaktylie, d.h. der Verdoppelung eines Finger- oder Zehenstrangs (s. Abbildung 27 a). Sie trat bevorzugt an der linken Hinterpfote auf. Der Unterscheidung zwischen echter und unechter Polydaktylie (Schwielenbildung), wie sie bei NMRI-Mäusen häufig auftritt, wurde besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Es handelt sich bei der Polydaktylie um die einzige Veränderung, die auch bei unbehandelten Tieren mit einer relativ hohen Frequenz von 5.9% beobachtet wurde. Die Behandlung mit Urethan verdoppelte diese Frequenz auf 11.7%.

Zusätzlich zum gehäuften Auftreten von Polydaktylie sind nach Urethan-Behandlung gelegentlich Mikrophthalmie (3.2%), Wolfsrachen (2.1%) und Nierendysplasien (2.1%) festzustellen (s. Abbildungen 27 b, c und e). Die Nierenveränderungen manifestierten sich als einseitige Verkleinerung (Hypoplasie), die stets mit dem

Fehlen der Nebenniere verbunden war und gelegentlich auch mit Verkümmern eines Ureters.

Die Schädigungsrate nach alleiniger Durchführung der zur Modifikation der Karzinogenwirkung gewählten Behandlungen (Tabelle 14, Teil 1) zeigt keinen statistisch sicherbaren Unterschied zu jener, die in unbehandelten Tieren auftritt, wenngleich Koffein, das die stärkste Wirkung zeigte eine Schädigungsrate aufwies, die mit 13.7% um mehr als das Doppelte über der Spontanrate lag. Koffein ist zudem die einzige Behandlung, durch die ein weiterer Schädigungstyp, nämlich Exencephalie, induziert wurde (s. Abbildung 27 d).

Sämtliche Behandlungen, unabhängig davon, ob sie eine teratogene Wirkung haben, führen zu einer Gewichtsreduktion der Feten. Nicht ausser Acht zu lassen ist hierbei eine mögliche Stress-Reaktion der Mutter, die in unbehandelten Tieren ausbleibt und die nicht unbedeutende physiologische Veränderungen zur Folge haben kann (MICHEL und FRITZ-NIGGLI, 1977).

Abbildung 28 und Tabelle 14 verdeutlichen, dass vier der gewählten Zusatzbehandlungen, nämlich Vitamin C, Chloroquindiphosphat, sowie die relativ kleinen Dosen von 5 und 20 cGy Röntgenstrahlen, die Entstehung von durch Urethan ausgelösten Missbildungen wesentlich und statistisch gesichert (U-Test) einschränken können. Dabei wird insbesondere das Auftreten der bei unbehandelten Tieren nicht auftretenden Anomalien, wie Mikrophthalmie, Wolfsrachen und Nierendysplasie herabgesetzt (Vitamin C) oder gänzlich verhindert (Röntgenstrahlen und Chloroquin-diphosphat). Röntgenstrahlen und Chloroquin-diphosphat reduzieren also die Vielfalt und Zahl der Anomalien auf den Wert unbehandelter Kontrolltiere.

Eine Zusatzbehandlung mit Koffein bewirkte keine statistisch signifikante Reduktion der fetalen Schädigung. Dennoch kann eine Interaktion zwischen Urethan und Koffein nicht ausgeschlossen werden, da die Schädigungsrate interessanterweise nach kombinierter Anwendung von Urethan und Koffein gleich hoch war, wie nach alleiniger Koffeingabe.

Dass die von Nomura beschriebene antiteratogene Wirkung von Koffein nicht oder nur tendenzmässig auftritt, hängt offensicht-

lich mit dem für die Teratogenese weniger empfindlichen Gestationszeitpunkt (Tag 14 statt Tag 10) zusammen, kann aber zudem auch in der geringeren Empfindlichkeit unseres Mausstammes und im unterschiedlichen Applikationsmodus (einmalige Behandlung ohne Kumulationswirkung) begründet sein.

Bei den Zusatzbehandlungen mit eindeutig antiteratogener Wirkung handelt es sich interessanterweise um die selben, die auch die in utero-Karzinogenese wirksam beeinflussen konnten (s. Kapitel 3.3.2). Diese erstaunliche Übereinstimmung wird durch Abbildung 29 verdeutlicht. Zur Erleichterung des Vergleichs wird hier der durch die Kombinationswirkung erzielte Effekt als Relativwert der durch Urethan allein erzeugten Wirkung (= 100% bzw. 1.0) angegeben.

Die grafische Gegenüberstellung der Beeinflussung von Tumorinduktion und teratogener Wirkung lässt für die einzelnen Modifikatoren exakt die selben Tendenzen erkennen. Von besonderem Interesse ist es, dass die kleine Strahlendosis von 5 cGy in allen Fällen den deutlichsten antagonistischen Effekt zeigt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Urethanbehandlung trächtiger NMRI-Weibchen am 14. Gestationstag keine Erhöhung fetaler Letalität zur Folge hat, jedoch eine leichte bis mittlere teratogene Wirkung ausübt, die sich hauptsächlich als Polydaktylie und gelegentlich als Mikrophthalmie, Wolfsrachen oder Nierendysplasie manifestiert. Chloroquin, Vitamin C und kleine Dosen von Röntgenstrahlen im Bereich von 5-20 cGy, die auf Urethan eine antikarzinogene Wirkung ausüben, zeigen ebenfalls deutliche antiteratogene Eigenschaften. Diese Tatsache erhärtet die Vermutung, dass für die Auslösung teratogener wie neoplastischer Veränderungen vergleichbare, vermutlich genetisch fixierte Mechanismen verantwortlich sein dürften.

5. DNS-SYNTHESEAKTIVITÄT IM LUNGENGeweBE NACH URETHANGABE UND MIT URETHAN KOMBINIERTER BEHANDLUNG

5.1 EINLEITUNG

Obschon Urethan nach i.p. Verabreichung nicht organspezifisch inkorporiert wird (KAYE, 1968) wirkt es ausschliesslich in der Lunge eindeutig karzinogen.

Als lungenspezifische Wirkung nach Urethan-Behandlung wurde von GORELIK und HERBERMAN (1981) eine Herabsetzung der natürlichen Killerzell-Aktivität gegenüber i.v. inokulierten Tumorzellen in der Lunge beschrieben. Die Stärke dieser Inhibitionswirkung ist direkt proportional zur Anzahl der durch Urethan induzierbaren Lungentumore in Mausstämmen unterschiedlicher Tumoranfälligkeit. Die Killerzell-Aktivität scheint damit zu den bestimmenden Faktoren für eine karzinogene Resistenz zu gehören.

DANI (1983) konnte zudem in Lungen-Mikrosomen Urethan-behandelter Tiere neue Proteine nachweisen, die in anderen Organen und in un-behandelten Tieren fehlen.

Von besonderem Interesse sind zellspezifische Reaktionen der Urethanbehandlung in der Lunge und Verfahren, die darin eventuelle Unterschiede zwischen Tumor-Ausgangszellen (Pneumozyten-2) und anderen epithelialen Lungenzellen erkennen lassen. Da die Entstehung von Neoplasmen mit einer zunehmenden Zellproliferation einher geht, liegt es nahe, Änderungen in der DNS-Syntheseaktivität zu suchen und mittels autoradiographischer Methoden (s. Kapitel 5.2) sichtbar zu machen.

So untersuchten SHIMKIN et al. (1969) den Einbau von ^3H -Thymin in Lungenzellen männlicher A/He-Mäuse zu unterschiedlichen Zeiten nach einmaliger i.p. Injektion von 1 mg Urethan. Es zeigte sich, dass die Alveolarzellen am ersten Tag nach Urethangabe einen gegenüber der unbehandelten Kontrolle geringeren Markierungsindex aufwiesen. Drei Tage später waren wieder Normalwerte erreicht, und bis zum 7. Tag nach Urethan stieg die Anzahl markierter Zellen rasch an bis zu einem Maximum mit dem 6-fachen des Kontrollwertes am Tag 7 nach Urethan. Mit zunehmendem zeitlichem Abstand zur Urethangabe war dann eine Abnahme der Anzahl markierter Alveolarzellen festzustellen. Nach 3 Wochen waren dann wieder

annähernd Kontrollwerte erreicht. In der Untersuchung wurden allerdings die unterschiedlichen Alveolarzelltypen vereinfachend als eine Gruppe betrachtet. Aus der Tatsache, dass bei sehr kleinen, aber dennoch karzinogenen Urethandosen eine entsprechende Reaktion ausblieb, schliessen die Autoren, dass es sich bei der Urethan-induzierten Veränderung der DNS-Syntheseaktivität eher um einen toxischen Nebeneffekt handeln dürfte, der nicht unbedingt eine Schlüsselstellung in der Urethan-Karzinogenese einzunehmen braucht.

THEISS und SHIMKIN (1978) konnten nach Urethanbehandlung scintigraphisch die selben, zeitlich gleich verlaufenden Änderungen in der DNS-Syntheseaktivität des Lungengewebes feststellen. Interessant war bei ihren Versuchen, dass zusätzliche Koffein-Injektionen antagonistisch wirkten, sowohl auf die nach Urethan charakteristische Steigerung des ^3H -Thymidin-Einbaus, wie auch auf die Entstehung von Lungentumoren. Die Autoren postulieren, dass der Antagonismus von Koffein gegenüber toxischen bzw. karzinogenen Auswirkungen von Urethan auf die Lunge und der Zusammenhang zur Koffein-bedingten Änderung der DNS-Syntheseaktivität durch eine Verkürzung der Synthesedauer und damit auch der Bindungszeit zwischen Urethan und der DNS zustande kommen könnte. Dies wäre im Einklang mit Untersuchungen von KAUFFMANN (1972), in denen ein erhöhter Markierungs-Index von Pneumozyten eine Woche nach Urethangabe auf eine Verlängerung der S-Phase zurückgeführt wird. Die Verlängerung der Zellzyklusdauer war zwischen dem 2. und 7. Tag nach Urethanbehandlung festzustellen. CORNMAN (1954) untersuchte die leicht zytostatische Eigenschaft von Urethan an Seeigeleiern und stellte fest, dass Urethan die Zellen zwar zur Teilung anregt, welche aber verlangsamt abläuft.

Unsere Untersuchungen sollen zeigen, ob bei NMRI-Mäusen nach einmaliger i.p. Injektion von Urethan die von THEISS und SHIMKIN gefundenen charakteristischen Änderungen in der DNS-Syntheseaktivität ebenfalls auftreten und ob zudem bestimmte Zelltypen, wie etwa die Pneumozyten-2, als Tumor-Ausgangszellen, davon besonders betroffen sind. Zusätzlich sollen Informationen darüber gewonnen werden, ob alle von uns angewendeten Behandlungen mit antagonistischer Wirkung auf die Urethan-Karzinogenese (s. Kapitel 3) das DNS-Aktivitätsmuster ebenfalls und in gleicher Weise

beeinflussen können.

5.2 MATERIAL UND METHODEN

In einem ersten Versuch erhielten weibliche NMRI-Mäuse im Alter von 9 Wochen eine einmalige intraperitoneale Injektion von 0.8 mg/g KG Urethan (Fluka AG) als 4%-Lösung in aqua redest. Zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Injektion, nämlich am Injektionstag (Tag 0) und 1, 4, 8, 11, 18 und 21 Tage danach wurde jeweils 2 Tieren 25 uCi ^3H -Thymidin (spez. Aktivität: 6 Ci/mMol) i.p. injiziert. 30 Minuten nach der Injektion wurden die Tiere getötet, ihre Lungen fixiert und nach dem üblichen Verfahren (s. Kapitel 2.2) für die Histologie aufgearbeitet und in Paraplast-Plus eingebettet. Die 5 um dicken Schnitte wurden mit Hämalaun-Eosin gefärbt. Pilotversuche haben gezeigt, dass diese der Exposition vorangehende Färbung keinerlei Einfluss auf die radio-graphische Reaktion der verwendeten Fotoemulsion hat. Den nach der Färbung getrockneten Präparaten wurde eine auf 40°C erwärmte Kodak-NTB3-Emulsion aufgetropft und mit einer Pasteurpipette homogen ausgestrichen. Die Exposition erfolgte unter Luftentfeuchtung in lichtdichten Kästen bei 4°C während 3 Wochen. Anschliessend wurden die Präparate mit Kodak D-19-Entwickler (Verdünnung 1:1) bei 20°C während 4 Minuten entwickelt und mit Agefix fixiert. Die gewässerten und in aqua dest. gespülten Präparate wurden mittels eines wasserlöslichen Einbettmittels (Faure'sche Lösung) eingedeckt und unter dem Lichtmikroskop bei 1000-facher Vergrösserung ausgewertet (s. Abbildung 31).

In einer zweiten Versuchsserie erhielten die Mäuse zusätzlich zum Urethan jeweils eine der Zusatzbehandlungen, die sich als antikarzinogen erwiesen hatten (s. Kapitel 3). Es wurden sowohl weibliche wie männliche Tiere untersucht. Methodisch wurde gleich verfahren, wie im ersten Versuch, wobei hier als Autoradiographie-Zeitpunkte die Tage 1, 4, 8 und 18 nach Behandlung gewählt wurden.

Die Behandlungen bestanden in einer einmaligen i.p. Injektion von 0.8 mg/g KG Urethan, gefolgt von jeweils einer Zusatzbehandlung

6 Stunden nach Urethangabe. Nach den in Kapitel 3.2 beschriebenen Methoden und Dosierungen wurden folgende Zusatzbehandlungen angewendet: Koffein (0.06 mg/g KG), Vitamin C (3.3 mg/g KG), Chloroquin-diphosphat (0.1 mg/g KG), sowie 200 kVp-Röntgenstrahlen in Dosierungen von 5, 100 und 500 cGy. Als Referenz dienten Lungen unbehandelter und mit Urethan allein behandelter Tiere. Zellen, die von mehr als 8 Silberkörnern überlagert waren wurden als markiert angesehen.

5.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Population markierter Zellen in den Autoradiogrammen des 1. Versuchs besteht zu einem grossen Teil aus Alveolarmakrophagen, Leukozyten, endothelialen und interstitiellen Zellen. Diese wurden jedoch im Zusammenhang mit unserer Problemstellung nicht berücksichtigt, sondern es wurden lediglich jene Zellen epithelialer Herkunft bezüglich ihrer ^3H -Thymidin-Inkorporation untersucht, die als Tumor-Ausgangszellen zur Diskussion stehen, nämlich Zellen des Bronchial- und des Alveolarepithels.

Abbildung 30 und Tabelle 15 verdeutlichen, dass der Markierungs-Index der Bronchialepithelzellen von der Urethangabe nicht beeinflusst wird und bis zum 21. Tag nach der Urethan-Injektion einen konstanten Wert aufweist, der zwischen 2 und 4 Zellen pro 1000 liegt.

Bei den Pneumozyten ist bis 24 Stunden nach Urethangabe ebenfalls keine merkliche Veränderung im Anteil markierter Zellen festzustellen. Er bewegt sich zwischen 2 und 7 Zellen pro 1000. Trotz des leichten Rückgangs der Anzahl markierter Pneumozyten-2 kann nicht von einem eigentlichen Rückgang markierter Zellen am ersten Tag nach Urethanbehandlung, wie er von SHIMKIN et al. (1969) beschrieben wird, gesprochen werden. Dafür aber trat anschliessend eine markante Einbausteigerung auf, wie sie auch von FOLEY et al. (1963) und von THEISS und SHIMKIN (1978) für das Lungengewebe generell, sowie von SHIMKIN et al. (1969) für die Alveolarepithelzellen (Pneumozyten) beobachtet wurde. Das Maximum markier-

ter Zellen war am Tag 8 nach Urethangabe erreicht. Es waren sowohl Pneumozyten-1 wie Pneumozyten-2 vom gesteigerten ^3H -Thymidin-Einbau betroffen, letztere allerdings wesentlich stärker. Die Anzahl markierter Pneumozyten-1 beträgt zu diesem Zeitpunkt mit 14/1000 das 4.6-fache des Ausgangswertes von 3/1000 am Tag 0; jene der Pneumozyten-2 mit 45/1000 gegenüber 5/1000 das 9-fache.

Für beide Zelltypen des Alveolarepithels zusammen ergibt sich eine Steigerung von 8/2000 auf 59/2000 oder eine Erhöhung markierter Alveolarzellen auf das 7-fache des Ausgangswertes, was mit der von SHIMKIN et al. (1969) an A/He-Mäusen gemachten Beobachtung einer 6-fachen Zunahme recht gut übereinstimmt.

Bis zum 21. Tag nach Urethangabe sind die Ausgangswerte wieder annähernd erreicht. Bemerkenswert ist die gute Übereinstimmung der Messungen aus den Autoradiogrammen des Lungengewebes der jeweils 2 pro Messpunkt ausgewerteten Versuchstiere.

Die selektive Wirkung auf das Alveolarepithel, ohne Einfluss auf die Bronchialepithelien, sowie die bevorzugte Reaktion von Pneumozyten-2 auf die Urethanbehandlung, erhärten die morphometrischen und histopathologischen Befunde (s. Kapitel 2), die darauf hindeuten, dass die Pneumozyten-2 als Tumor-Ausgangszellen zu betrachten sind. Allerdings muss gesagt werden, dass die Pneumozyten-2 als Stammzellen eine grössere mitotische Aktivität aufweisen dürften, als die spezialisierten Pneumozyten-1.

Die 2. Versuchsserie sollte zeigen, ob sich Hinweise auf einen direkten Zusammenhang zwischen der Stärke der Induktion von Lungentumoren und der Steigerung der DNS-Syntheseaktivität am 8. Tag nach der Karzinogenbehandlung ergeben. Im zutreffenden Fall wäre zu erwarten, dass sich eine Zusatzbehandlung, welche die Karzinogenwirkung herabsetzt (s. Kapitel 3), bereits 8 Tage nach der Karzinogengabe durch eine verminderte Anzahl DNS-synthetisierender Pneumozyten-2 manifestiert.

Tatsächlich kann gezeigt werden, dass, mit Ausnahme von 500 cGy Röntgenstrahlen, sämtliche Zusatzbehandlungen, die eine Herabsetzung der Frequenz induzierter Lungentumore zur Folge hatten, 8 Tage nach der Behandlung eine gegenüber der alleinigen Urethanbehandlung reduzierte DNS-Syntheseaktivität der Pneumozyten-2 auf-

wiesen. Die Befunde werden durch die grafische Gegenüberstellung in Abbildung 36 verdeutlicht.

Die Änderung des Markierungsindex der Pneumozyten in Abhängigkeit vom Intervall zwischen Behandlung und ^3H -Thymidin-Injektion geht aus den Abbildungen 32-35 hervor (genaue Messwerte s. Tabelle 16). Wie im 1. Versuch ist auch hier die selbe charakteristische Reaktion der Pneumozyten auf die Urethanbehandlung zu beobachten, die wiederum in Pneumozyten-2 wesentlich stärker zum Ausdruck kommt, als bei Pneumozyten-1:

Nach einem leichten Anstieg zwischen dem 1. und 4. Tag nach der Behandlung folgt ein markanter Anstieg bis zum Maximum markierter Zellen, das ca. 8 Tage nach Urethangabe erreicht ist. Anschließend folgt ein Absinken auf die Ausgangswerte, die am 21. postkarzinogenen Tag annähernd erreicht sind.

Bei den weiblichen Mäusen war in Pneumozyten-2 eine Steigerung der DNS-Syntheserate zwischen dem 1. und 8. Tag um das gut 15-fache, d.h. von 2.9/1000 auf 45.1/1000 zu verzeichnen. Für die Pneumozyten-1 dagegen war lediglich ein Anstieg um das 4.6-fache, d.h. von 3/1000 auf 13.8/1000 festzustellen.

In männlichen Lungen wurden vergleichbare Werte registriert. Hier konnte ebenfalls eine knapp 15-fache Steigerung markierter Pneumozyten-2, d.h. von 3.2/1000 auf 46/1000 beobachtet werden, während in Pneumozyten-1 ein Anstieg um das 7-fache von 2.3/1000 auf 16.6/1000 zu beobachten war.

Der zeitliche Verlauf der Änderungen im Anteil markierter Pneumozyten (Abbildungen 32-35) verdeutlicht eindrucksvoll, dass sowohl chemische Zusatzbehandlungen, wie zusätzliche Röntgenbestrahlungen, welche die Urethan-bedingte Tumorinduktion beeinflussen können, am Tag 8 nach Behandlung eine Senkung des Anteils markierter Pneumozyten-2 zur Folge haben. Besonders deutlich ist die Reduktion dieses Markierungs-Maximums bei Männchen nach zusätzlicher Applikation von Vitamin C oder bei Weibchen nach zusätzlicher Bestrahlung mit 5 cGy Röntgenstrahlen. Beide Behandlungen zeigen mit einer markanten Reduktion der Tumorrates deutliche antikarzinogene Eigenschaften (vgl. Kapitel 3). Nach Zusatzbehandlung mit Koffein dagegen, das in Weibchen keine modifizierende Wirkung auf die Tumorinduktion ausübt, ist zugleich auch bezüglich Markierung der Pneumozyten-2 kaum ein Unterschied zur

Reaktion, wie sie durch alleinige Urethangabe ausgelöst wird, festzustellen.

Der zu erwartende Erfolg der Zusatzbehandlung bezüglich Tumorreduktion wäre damit also bereits nach 8 Tagen am Grad der Reduktion des Maximums markierter Pneumozyten-2 ablesbar. Einzige Ausnahme davon stellt die zusätzliche Behandlung mit der relativ hohen Strahlendosis von 500 cGy dar. Es ist nicht ausgeschlossen, dass in diesem Falle durch die vermutlich grosse Schädigung des Lungengewebes eine Repopulation abgestorbener Zellen notwendig wird und dadurch die Pneumozyten-2 als Stammzellen zu vermehrter Teilungsaktivität stimuliert werden. Zudem könnte die Bestrahlung den Ablauf des Zellzyklus zusätzlich in der Art stören, dass durch eine Verlangsamung und vorübergehende Synchronisation der Einbau von ^3H -Thymidin erhöht scheint.

In allen Fällen, bei denen eine Koinzidenz zwischen dem Ausmass der Steigerung des ^3H -Thymidin-Einbaus am Tag 8 nach Behandlung und der sich später manifestierenden Stärke der Karzinogenwirkung zu verzeichnen ist, stellt sich die Frage, ob es sich dabei um eine grundlegende Reaktion der Urethan-Kanzerogenese handelt.

Grundsätzlich müssen zwei unterschiedliche Reaktionen des Urethans auf die betroffenen Zellen unterschieden werden. Zum einen handelt es sich um eine direkte Wechselwirkung mit der DNS, zum andern um eine Beeinflussung von Mechanismen der zellulären Reproduktion.

Die direkte Wechselwirkung von Urethan mit der DNS wurde von BOYLAND und WILLIAMS (1969) mittels ^{14}C -markiertem Urethan (Carboxy- ^{14}C -Carbamat und 1- ^{14}C -Aethylcarbamat) nachgewiesen. Dabei sind insbesondere die Pyrimidin-Basen betroffen. Die Bindung ist sehr extensiv und hydrolytisch nicht zu lösen (PRODI et al., 1970). Da zudem Thymin und Thymidin einen Schutzeffekt gegenüber der Karzinogenwirkung des Urethans ausüben können (ELION et al., 1960), könnte die Karzinogenität von Urethan mit der Blockierung enzymatischer Schritte im Nukleinsäuremetabolismus, vermutlich während der Pyrimidinsynthese, im Zusammenhang stehen.

Es gibt mehrere Anhaltspunkte, dass der wesentliche Schritt des

Vorgangs, der zur Transformation der Pneumozyten führt, in die ersten 24 Stunden nach Urethangabe fallen; in einen Zeitpunkt also, zu welchem die DNS-Aktivität noch nicht beeinflusst ist. So sind modifizierende Zusatzbehandlungen später als 24 Stunden nach Urethan-Injektion wirkungslos (BARTLETT, 1970; NOMURA, 1978; THEISS und SHIMKIN, 1978). Zudem werden ca. 90% der verabreichten Urethan-Dosis innerhalb 24 Stunden metabolisiert und über die Atemwege eliminiert, ca. 5% verbleiben im Körper und 5% werden im Urin ausgeschieden (SKIPPER et al., 1951).

Im Kapitel 3 wurden Möglichkeiten diskutiert, die für die Transformation und ihre Beeinflussung verantwortlich sein könnten, sowohl was die Urethan-DNS-Wechselwirkung, wie die für die Fixierung der Änderungen notwendigen Reparatur-Mechanismen betrifft.

Bei den am Tag 8 nach Urethangabe markierten Pneumozyten-2 handelt es sich demnach kaum um Zellen, die eine unmittelbare Reaktion auf das allenfalls noch nicht metabolisierte Urethan zeigen. Zudem handelt es sich bei den markierten Zellen nicht ausschliesslich um präsumptive Tumorzellen, da die Markierung nicht fokal auftritt, sondern über das ganze Lungengewebe verteilt ist. Die zusätzliche Markierung dürfte vielmehr auf eine Verlangsamung des Zellzyklus in den durch Urethan zur Teilung angeregten Zellen zurückzuführen sein (KAUFFMANN, 1972), was zu einer verlängerten S-Phase und zu erhöhter Markierungschance führen müsste. Auch nicht zur Neoplasie führende DNS-Änderungen in Pneumozyten-2 dürften eine nicht programmierte DNS-Synthese bewirken.

Es besteht die Möglichkeit, dass eine antikarzinogen wirkende Zusatzbehandlung nicht nur die Qualität der Urethan-DNS-Interaktion kurz nach Urethangabe oder die dadurch bedingten Reparaturvorgänge beeinflusst, sondern gleichzeitig auch die Bedingungen für die Auslösung zytostatischer Effekte verändern kann. Schliesslich ist es auch vorstellbar, dass eine direkte Interaktion des Modifikators mit dem Karzinogen zu einer verminderten Reaktionsfähigkeit mit den Pneumozyten-2 führt, oder dass die Zusatzbehandlung in die Vorgänge des Urethan-Metabolismus eingreifen kann.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Erfolg einer Karzinogenwirkung von einer störungsfreien Wechselwirkung mit Pneumozyten-2 abhängt, deren Ausmass korreliert zu sein scheint mit einer vorübergehenden Steigerung der DNS-Synthese-Aktivität, die ihr Maximum am Tag 8 nach der Urethangabe erreicht. Inwiefern sich solche autoradiographischen Untersuchungen zur Früherkennung einer karzinogenen Reaktion des Lungen-Alveolargewebes eignen könnten, müssten weitere, breiter angelegte Studien mit unterschiedlichen Karzinogenen zeigen.

6. KONVENTIONELLE UND SUPERFRAKTIONIERTER STRAHLENTHERAPIE URETHAN-INDUZierter LUNGENTUMORE MIT 240 kVp-RÖNTGENSTRAHLEN UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH CHLORPROMAZIN

6.1 ÜBERSICHT

Theoretische Überlegungen und tierexperimentelle Ansätze haben in jüngster Zeit zu strahlenbiologischen Erkenntnissen geführt, die dafür sprechen, dass in der Strahlentherapie des Krebses das klassische Dosis-Zeit-Verhältnis überprüft werden sollte. Insbesondere ist die sogenannte Multifraktionierung, d.h. die Applikation mehrerer Fraktionen pro Tag an Stelle der üblichen einmal täglichen Bestrahlung, in den Brennpunkt des Interesses gerückt (SCHULZ et al., 1982).

Die in diesem Kapitel beschriebenen vorläufigen Untersuchungen über die Reaktion unseres Tumorsystems auf strahlentherapeutische Massnahmen sollten experimentell die Eignung solcher, von der konventionellen Therapie abweichender Ansätze prüfen. Gleichzeitig soll die Beeinflussung des Therapieverlaufs durch das als Neuroleptikum verbreitet angewendete Chlorpromazin untersucht werden, dessen strahlensensibilisierende Wirkung bei intratumoraler Injektion in transplantable Subkutantumore beschrieben ist (DAMSKER, 1978; GEORGE et al., 1980; SHENOY und SINGH, 1980).

Für die Therapie mit mehreren Fraktionen pro Tag gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten:

Im Falle der Hyperfraktionierung wird eine konventionelle Fraktionsdosis, die im Bereich zwischen 1.5 und 3 Gy liegt, mehrmals täglich appliziert. Bei gleicher Gesamtdosis wird dadurch die Therapiedauer gegenüber der konventionellen Therapie verkürzt.

Die zweite Möglichkeit, die sogenannte Superfraktionierung, die wir experimentell untersuchen möchten, besteht darin, die konventionelle Tagesdosis in mehrere Einzelfraktionen aufzuteilen. Dadurch wird die Gesamtdauer der Therapie nicht verkürzt, doch ist die Dosis pro Fraktion kleiner als bei der konventionellen Therapie.

Falls sich die Multifraktionierung gegenüber der konventionellen Therapie als wirksamer erweisen sollte, besteht die Aussicht,

dass die Gesamtdosis zur Erreichung des selben Therapie-Erfolges reduziert werden kann. Dies wäre auch sinnvoll zur Schonung des gesunden Gewebes, wie Untersuchungen von WAMBERSIE und DUTREIX (1982) zeigen, in denen die erforderliche Gesamtdosis zur Erzeugung eines bestimmten biologischen Effektes gegen die Zahl der Einzelfraktionen, bzw. die Dosis pro Fraktion aufgetragen wurde.

Für die experimentellen Ansätze allgemein akzeptiert wird die Annahme, dass sich die Zellzyklusdauer von gesundem und Tumorgewebe unterscheiden und dass Reparaturprozesse in den meist hypoxischen Tumorzellen in der Regel langsamer ablaufen als im gesunden Gewebe, wo sie in 2 bis 4 Stunden abgeschlossen sind (CHOI et al., 1975; ARCANGELI et al., 1979).

Die meisten Erkenntnisse über den Einfluss der Veränderung des Zeit-Dosis-Verhältnisses wurden aus in vitro-Untersuchungen an Säugerzellen gewonnen. Sie haben gezeigt, dass das Ideal-Intervall zwischen zwei Einzelfraktionen bei 4 Stunden liegt und bei niedrigen Einzelfraktionsdosen ein günstiges OER-Verhältnis zwischen Tumor- und Normalgewebe erzielt werden kann (LITTBAND, 1970).

Der Überblick von KOTALIK (1981) über die zahlreichen experimentellen Untersuchungen erhärtet die Annahme, dass durch die Reduktion der Bestrahlungsintervalle auf 3 bis 8 Stunden bei einer 2 bis 3 mal täglich fraktionierten Strahlentherapie die therapeutische Wirkung wesentlich verbessert werden sollte, da

- das Fraktionierungsintervall genügt, um normalen sauerstoffreichen Zellen eine bessere Reparatur zu erlauben, als hypoxischen Tumorzellen, deren Schädigung durch die aufeinanderfolgenden Bestrahlungen kumuliert wird und damit
- die Repopulation von Tumorzellen zwischen den Fraktionen herabgesetzt wird,
- eine Reoxygenierung im Tumorgewebe erfolgen kann und
- Tumorzellen in strahlensensiblere Zyklusphasen gelangen können.

Den positiven strahlenbiologischen Aspekten, die sich an experimentellen Modellen zeigen, die allerdings den Verhältnissen an menschlichen Tumoren nicht immer vergleichbar sind, steht der bislang weitgehend fehlende klinische Beweis einer Prognoseverbesserung gegenüber. Es ist nicht einfach, aus den spärlichen

Publikationen über die klinische Anwendung der Multifraktionierung zuverlässige Schlüsse zu ziehen, da die Vergleichbarkeit der Kollektive, der Strahlendosis und der Felderwahl oft in Frage gestellt werden muss. Zudem ist meist die Vorgeschichte der Patienten, insbesondere was Chemotherapie und weitere medikamentöse Behandlung anbetrifft, nicht genügend berücksichtigt. Es existieren nur sehr wenige randomisierte Studien, da in den meisten Fällen im Verlaufe der Therapie die Bestrahlungsmodalitäten entsprechend den individuellen Reaktionen und Nebenwirkungen der Patienten mehrmals verändert wurden. Tabelle 17 fasst eine Auswahl von Ergebnissen neuerer Publikationen über klinische Erfahrungen mit der multiplen täglichen Strahlentherapie zusammen. Bei der Hyperfraktionierung scheinen insbesondere im Bereich der Schleimhaut stärkere Nebenwirkungen aufzutreten, doch dürfte die Verkürzung der Therapiedauer, insbesondere wenn medikamentöse Zusatzbehandlungen notwendig sind, von Vorteil sein. Die Superfraktionierung scheint demgegenüber die verträglichere und erfolgreichere Behandlung zu sein, bringt aber für den Patienten die Unannehmlichkeit vieler Bestrahlungssitzungen mit sich. Da eine generelle Anwendung der Multifraktionierung sowohl aus ökonomischen, wie auch aus patientenpsychologischen Gründen ausser Betracht fallen dürfte, müsste eine für diese Therapie geeignete Selektion von Tumorarten getroffen werden, die nur schwer mit konventioneller Fraktionierung anzugehen sind.

Der von uns untersuchte Experimentaltumor, der sich in Erscheinungsbild, Kinetik und Malignität kaum von der menschlichen Lungenadenomatose unterscheidet (s. Kapitel 2.3.2), sollte durch das Ausbleiben von Fernmetastasen als "lokales Problem" gute strahlentherapeutische Voraussetzungen für fraktionierungsstudien bieten. Insbesondere lässt der relativ hohe Differenzierungsgrad des Tumors eine erhöhte Strahlenresistenz und damit eine differenzierte Antwort auf unterschiedliche Therapieansätze erwarten. Zudem stehen erstaunlicherweise Untersuchungen zur Therapierbarkeit Urethan-induzierter Lungentumore noch gänzlich aus, obschon sich zahlreiche Arbeiten, die sich mit den in die Chemokarzinogenese involvierten Vorgängen befassen, auf Erkenntnisse stützen, die an Urethan-induzierten Neoplasmen gewonnen wurden.

6.2 MATERIAL UND METHODEN

a) Versuchsablauf

Gruppen von jeweils 10-15 weiblichen NMRI-Mäusen wurden 20 Wochen nach i.p. Injektion von Urethan (1 mg/g) entweder einer konventionellen, d.h. einmal-täglichen, oder einer multifraktionierten, d.h. mehrfach-täglichen Strahlentherapie mit 240 kVp-Röntgenstrahlen unterzogen.

Bei der konventionellen Therapie wurde 5x wöchentlich eine Dosis von 1.2 Gy lokal auf den Thorax abgegeben.

Bei der mehrfach-täglichen Therapie wurde eine Superfraktionierung gewählt. Dazu wurde die konventionelle Tagesdosis von 1.2 Gy in 3 Fraktionen zu 0.4 Gy aufgeteilt, die mit Intervallen von 4 Stunden verabreicht wurden.

Die Gesamtdauer der Therapie betrug für beide Therapieansätze 6 Wochen, bei einer Totaldosis von 36 Gy.

Zur selektiven Bestrahlung des Thorax wurde der Restkörper mit Bleiplatten abgeschirmt, für deren exakte Positionierung die axillären Brustdrüsenpaare der Maus gute Anhaltspunkte lieferten (Details s. Abbildung 37).

Zur Ruhiglegung der Tiere während der Bestrahlung war eine Narkose unerlässlich, wozu den Mäusen jeweils 15 Minuten vor der Bestrahlung 60 mg/kg Pentobarbital i.p. injiziert wurde.

Für die Bestrahlung wurden die narkotisierten Mäuse auf einer Plexiglasplatte fixiert und der Thorax wurde mit 240 kVp-Röntgenstrahlen bei einer Dosisleistung von 60 cGy/min bestrahlt. Die Filterung mit 1.0 mm Aluminium und 0.5 mm Kupfer ergab eine 1. HWS von 1.2 mm Cu bei einem Homogenitätsgrad von 0.53.

Der Erfolg der Behandlung wurde 10 Wochen nach Beendigung der Therapie mittels Sektion nach der im Kapitel 2.2 beschriebenen Methode beurteilt. Aus jeder Therapiegruppe wurde zudem eine zufällig getroffene Auswahl von Tumoren histologisch untersucht.

Zur Prüfung der Kombinationswirkung von Chlorpromazin mit der Strahlentherapie wurde für beide Fraktionierungsschemata während der ganzen Therapiedauer von 6 Wochen täglich einmal 6 mg/kg Chlorpromazin ("Chlorazin", Streuli) als 0.025%-Lösung in NaCl 0.9% i.p. injiziert.

Als Referenz für die Beurteilung der Wirkung der Strahlentherapie dienten folgende fünf Kontrollgruppen:

Eine erste Gruppe weiblicher NMRI-Mäuse erhielt keine therapeutischen Massnahmen.

An drei weiteren Gruppen wurde die Wirkung von Chlorpromazin bzw. Pentobarbital bezüglich einer allfälligen Tumor-Regressionsförderung beurteilt. Dabei wurde Chlorpromazin während 6 Wochen täglich einmal injiziert, Pentobarbital entweder einmal (Kontrolle zur konventionellen Therapie) oder dreimal täglich (Kontrolle zur Superfraktionierung).

Schliesslich dienten zwei weitere Versuchstiergruppen der Kontrolle der mit Chlorpromazin unterstützten Therapie. Im Falle des konventionellen Ansatzes erhielten die Tiere täglich einmal Chlorpromazin und Pentobarbital, gefolgt von einer Scheinbestrahlung. Die superfraktionierte Therapie wurde mit einer einmal-täglichen Chlorpromazingabe und dreimal-täglicher Pentobarbital-Injektion mit nachfolgender Scheinbestrahlung simuliert.

b) Problematik der Arzneimittel-Nebenwirkungen

In der Humanmedizin findet Chlorpromazin (Megaphen, Largactil) seine Anwendung v.a. in der Geriatrie und Psychiatrie, da es je nach Dosierung eine psychorelaxierende bis neuroleptische Wirkung ausübt. Als Nebenwirkungen sind neben gelegentlichem Auftreten von Tachykardie und Hautirritationen vor allem Schläfrigkeit und eine deutliche temperatursenkende Eigenschaft zu nennen (JOHNSON, 1969; ELLIS, 1976; AMMON, 1981). Es schien uns wesentlich, zu prüfen, inwiefern diese hauptsächlichsten Nebenwirkungen, die in den oben angeführten experimentellen Untersuchungen nicht erwähnt werden, bei unseren Versuchstieren auftreten können. Zum einen kann eine länger dauernde Sedierung, besonders bei wiederholter Medikation, zu reduzierter Nahrungs- und Wasseraufnahme führen; zum andern hätte eine Senkung der Körpertemperatur sicherlich Auswirkungen auf die bekannterweise stark temperaturabhängige Strahlenreaktion des Gewebes. Es ist auch von Interesse, ob bezüglich Sedation und Thermoregulation eine Wechselwirkung zwischen Chlorpromazin und Pentobarbital auftritt.

Abbildung 38 zeigt den rektal gemessenen Temperaturverlauf nach einmaliger i.p.-Injektion von Pentobarbital, Chlorpromazin und kombinierter Applikation beider Stoffe bei Raumtemperatur (20°C) und bei einer Umgebungstemperatur von 38°C (Wärmeschrank). Bei Raumtemperatur kommen für alle Behandlungsweisen markante temperatursenkende Eigenschaften zum Ausdruck.

Der geringste Effekt ist nach alleiniger Gabe von Pentobarbital (60mg/kg) festzustellen, doch sinkt hier die Körpertemperatur innerhalb 45 Minuten nach Behandlung immerhin um 4 Grad, d.h. von 38.5°C (Normaltemperatur) auf 34.3°C. Es schliesst dann eine Erholungsphase an, während der sowohl die Narkosewirkung endet (1.5 Stunden nach Injektion), wie auch die Körpertemperatur kontinuierlich steigt bis zum Erreichen der Normaltemperatur (2.5 Stunden nach Injektion).

Der zeitliche Verlauf des Rückgangs der Körpertemperatur nach Chlorpromazin (6 mg/kg) entspricht anfänglich jenem von Pentobarbital. Anschliessend sinkt die Temperatur jedoch stetig weiter, so dass ein Minimum von lediglich 29°C nach 2.5 Stunden erreicht wird. Diese äusserst drastische Untertemperatur von nahezu 10 Grad bleibt während weiteren 2.5 Stunden unverändert bestehen. Eine Erholung zeichnet sich erst später als 5 Stunden nach Injektion ab und die Normaltemperatur ist nach 7 bis 8 Stunden erreicht. Infolge der lang andauernden Hypothermie erstreckt sich die Sedationswirkung über 6 Stunden. Im Gegensatz zur Narkosewirkung von Pentobarbital sind die durch Chlorpromazin sedierten Tiere aufweckbar, verbleiben aber in einem Aktivitätsdeprivierten Zustand.

Die Kombinationsbehandlung von Chlorpromazin und Pentobarbital hat einen raschen Temperaturabfall zur Folge, dessen Tiefstpunkt nach 1.25 Stunden mit 29.3°C erreicht ist. Mit Nachlassen der Pentobarbital-Wirkung zwischen der 1. und 3. Stunde nach Injektion erfolgt ein Temperaturanstieg, der parallel zu demjenigen nach alleiniger Pentobarbitalbehandlung verläuft, jedoch wegen der noch andauernden Chlorpromazin-Wirkung auf ca 33°C stabilisiert wird. Ein weiterer Temperaturanstieg bis zur Normaltemperatur erfolgt erst zwischen der 6. und 7. Stunde nach Behandlungsbeginn. Das Ende der Narkosewirkung, die zwischen der 3. und 4. Stunde auch in einen Sedationszustand übergehen kann, liegt

mit 4 Stunden etwa in der Mitte zwischen der Wirkungsdauer von Pentobarbital und jener von Chlorpromazin. Die Kombination beider Pharmaka führt also zu einer Verlängerung der Pentobarbitalnarkose, und zu einer Verringerung der Chlorpromazin-induzierten Wirkung bezüglich Hypothermie und Sedation.

Aus Abbildung 38 ist ebenfalls ersichtlich, dass durch Erhöhung der Raumtemperatur auf 38°C diese Hypothermiereaktion weitgehend verhindert werden kann. Der selbe Effekt konnte auch durch lokale Erwärmung der Tiere mittels Infrarot erzielt werden, eine Möglichkeit, der wir für unsere Bedürfnisse aus praktischen Gründen den Vorzug gaben.

Abbildung 39 veranschaulicht den Verlauf der Körpertemperatur über 24 Stunden für eine superfraktionierte Strahlentherapie bei Raumtemperatur und bei Temperaturzufuhr mittels Infrarotstrahlen. Es wird daraus ersichtlich, dass durch die Wärmezufuhr von aussen, trotz täglicher Chlorpromazin- und dreimaltäglicher Pentobarbital-Injektion, die Körpertemperatur zu den drei Bestrahlungszeitpunkten stets im Bereich zwischen 37 und 38°C gehalten werden kann. Bei Raumtemperatur wäre dagegen für die erste Bestrahlungsfraction eine Körpertemperatur von 34°C zu erwarten, für die zweite Fraction würde sie bei 31°C und für die dritte Fraction bei 30°C liegen.

Wegen der sedativen Eigenschaften der Zusatzbehandlungen wurden die Bestrahlungen der nachtaktiven Versuchstiere tagsüber, d.h. während der eigentlichen Ruhephase, vorgenommen, um eine optimale Erholung zu ermöglichen. Zum Zeitpunkt 0 (07.00 Uhr) wurde die Infrarotbeheizung eingeschaltet und die Chlorpromazin-Injektion verabreicht. 30 Minuten später erfolgte die Pentobarbital-Injektion und nach weiteren 15 Minuten, d.h. um 07.45 Uhr die erste Bestrahlung. Zwischen der 3. und 4. Stunde (10.00-11.00 Uhr) erwachten die Tiere in der Regel und konnten bis zur nächsten Pentobarbital-Injektion, allerdings wegen der reduzierten Aktivität nur bedingt, etwas trinken und fressen. Um 11.30 Uhr erfolgte die zweite Pentobarbital-Injektion mit anschliessender Bestrahlung um 11.45 Uhr. Die dritte Bestrahlung erfolgte um 15.45 Uhr nach erneuter Pentobarbital-Narkose. Um 18.30 Uhr wurde dann die Infrarotanlage ausgeschaltet, wodurch es zu einem geringen Abfall der Körpertemperatur auf 35°C kam. Die normale Körpertemperatur

war schliesslich um 22.00 Uhr wieder erreicht und hielt sich während der Aktivitätsperiode bis zur 1. Behandlung des folgenden Tages.

6.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Resultate der Therapieversuche sind in Tabelle 18 und in den Abbildungen 40 und 41 zusammengefasst.

Der Diskussion der Ergebnisse ist die Bemerkung voranzustellen, dass die Untersuchungen, die mit relativ kleinen Tiergruppen durchgeführt wurden, eher Pilotcharakter haben. Sie bezwecken eine Klärung der Frage, inwiefern die Aussicht besteht, dass vertiefte Analysen zur Optimierung der Strahlentherapie beitragen könnten.

Die Wirkung der Therapie manifestiert sich am deutlichsten in der Tumorfrequenz (Abbildung 40). Hier ist bereits nach der konventionellen Therapie ein signifikanter Rückgang der mittleren Tumorzahl gegenüber den nicht therapierten Tieren um 60%, d.h. von 11.4 auf 4.6 Tumore pro Lunge festzustellen. Die superfraktionierte Therapie bringt mit einer Reduktion auf 4.2 Tumore pro Lunge in dieser Hinsicht keine weitere signifikante Verbesserung der Therapie. Erstaunlich ist es aber in beiden Fällen, dass der Tumor trotz seines hohen Differenzierungsgrades so gut auf die Strahlentherapie anspricht.

Für beide Fraktionierungsschemata bringt die zusätzliche Behandlung mit Chlorpromazin eine statistisch sicherbare Verbesserung. So kann in Kombination mit der konventionellen Therapie eine Reduktion auf 2.9 Tumore pro Lunge, entsprechend 25% des Wertes für nicht therapierte Tiere, erzielt werden. Im günstigsten Fall, d.h. bei der mit Chlorpromazin kombinierten Superfraktionierung, hat die Therapie einen Rückgang der Tumorzahl um 84% auf 1.8 Tumore pro Lunge zur Folge, was etwa 16% der Tumorfrequenz bei nicht bestrahlten Tieren entspricht.

Alle Kontrolluntersuchungen zur Prüfung der Wirkung von Chlorpromazin, Pentobarbital und deren Kombination zeigen keine signifi-

kanten Unterschiede gegenüber den nicht therapierten Tieren, wenn auch die einmal-tägliche Injektion von Pentobarbital eine eventuelle Senkung der Tumorfrequenz vermuten lässt.

Bei der Wertung dieses offensichtlichen Strahlentherapie-Erfolges ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Beurteilung auf der Annahme basiert, dass die Tumorinduktion in allen zur Therapie gelangenden Versuchstiergruppen gleich verläuft. Eine Kontrolle der Tumorprävalenz vor Behandlungsbeginn und eine direkte Verlaufskontrolle während der Therapie lag wegen der geringen Grösse der Tumore ausserhalb der routinemässig anwendbaren strahlendiagnostischen Möglichkeiten. Allerdings sprechen die geringen Unterschiede zwischen den einzelnen Kontrollgruppen dafür, dass die Tumorinduktion für alle Gruppen gleich verlaufen ist. Es liegt im Bereich der Möglichkeit, dass sich künftig durch neue diagnostische Methoden, wie etwa die Kernspintomographie, das Tumorwachstum im Verlaufe der Therapie erfassen lässt.

Anhand der Tumorprävalenz lassen sich die Remissionschancen durch die Therapie einigermassen abschätzen. Während nach alleiniger konventioneller Therapie alle Tiere weiterhin Tumorträger sind, ist bei zusätzlicher Chlorpromazingabe und für die superfraktionierte Therapie immerhin ein statistisch sicherbarer Rückgang auf 80% der Tiere zu verzeichnen. Der beste Erfolg ist wiederum für die Kombination von Chlorpromazin mit der superfraktionierten Therapie festzustellen, nach welcher immerhin 40% der Tiere tumorfrei waren.

Die Tumorgrössen der Tiere aus allen Kontrollgruppen, die die Wirkung alleiniger und kombinierter Anwendung von Chlorpromazin und Pentobarbital prüfen, unterscheiden sich nicht signifikant von jenen der nicht therapierten Tiere (s. Tabelle 18). Die mittleren Tumordurchmesser liegen zwischen 0.95 und 1.08 mm und entsprechen damit der Norm, die ca. 40 Wochen nach Urethan zu erwarten ist (vgl. Tabelle 7.6). Dagegen sind in sämtlichen Therapiegruppen die Lungentumore gesichert kleiner als bei unbestrahlten Tieren. Mit mittleren Durchmessern zwischen 0.61 und 0.87 mm haben sie die Grösse, die normalerweise 20 Wochen nach Urethan -in unserem Fall also zu Therapiebeginn- erreicht ist (vgl. Tabellen 7.4 und 13b). Die therapeutischen Massnahmen

scheinen also auch das Tumorwachstum zu beeinflussen.

Aus Abbildung 41 ist ersichtlich, dass alle Kontrollgruppen eine mit der nicht therapierten Gruppe vergleichbare Grössenverteilung der Tumore aufweisen. Dagegen fehlt sämtlichen Therapiegruppen die Tumor-Grössenklasse 4, die normalerweise erstmals zwischen der 20. und 30. Woche nach Urethangabe auftritt und identisch ist mit einer zur Malignität neigenden Karzinoidform, die sich aus dem ursprünglichen, durch Urethan induzierten und eher als benigne geltenden Adenom entwickelt (vgl. Kapitel 2.3.2). So fehlen nach der Therapie weitgehend diese rascher wachsenden Tumore mit Durchmessern, die in der box-plot-Darstellung als out- oder far-out-Werte zum Ausdruck kommen.

Es ist jedoch nicht wahrscheinlich, dass eine allfällige therapiebedingte Stabilisierung des 20-Wochen-Zustandes allein verantwortlich ist für die Reduktion der Tumorzahl. Für die beiden nicht mit Chlorpromazin kombinierten Strahlentherapien entspricht zwar die Tumorfrequenz von 4.6 bzw. 4.2 Tumoren pro Lunge der Erwartung für den Zeitpunkt des Therapiebeginns, d.h. 20 Wochen nach Urethan (vgl. Tabelle 7.4). Allerdings dürfte die Tumorfrequenz 20 Wochen nach Urethangabe eher höher liegen, da die Urethandosis für die Therapieversuche gegenüber den früheren Versuchen von 0.8 mg/g auf 1 mg/g gesteigert wurde. Auf alle Fälle liegt bei den nicht therapierten Tieren die Tumorzahl 36 Wochen nach Urethangabe mit 11.4 deutlich höher als in früheren Versuchen, wo nach 40 Wochen eine Frequenz von 7.1 Tumoren pro Lunge zu verzeichnen war. Wäre die geringe Tumorzahl bei therapierten Tieren auf eine alleinige Stabilisierung des 20-Wochen-Zustandes zurückzuführen, hiesse das, dass sich normalerweise die Tumorzahl zwischen der 20. und 36. Woche durch zusätzliches Auftreten neuer, oder zumindest früher nicht makroskopisch erkennbarer Tumore, um das 2.5-fache (von 4.6 auf 11.4) steigern würde. Dies ist eher unwahrscheinlich, da hier kaum eine wesentlich andere Wachstumskinetik vorliegen dürfte, als bei den vorangegangenen Versuchen, wo zwischen der 20. und 40. Woche die Tumorfrequenz um das 1.7-fache (von 4.0 auf 7.1) gesteigert wurde.

In besonderem Masse sprechen aber die drastisch reduzierten Tumorzahlen nach der mit Chlorpromazin kombinierten Strahlentherapie für ein Einschmelzen von Tumoren. Dabei interessiert vor

allem die Frage, ob vornehmlich die grösseren malignen oder die kleineren gutartigen Geschwülste auf die Bestrahlung reagieren. Aufschluss darüber kann eine Analyse der Übereinstimmung der histologisch definierten Tumorklassen mit den entsprechenden Grössenklassen, wie sie im Kapitel 2.3.2 charakterisiert wurden (vgl. Tabelle 10) geben. Zu diesem Zweck wurde aus jeder Behandlungsgruppe eine zufällig getroffene Auswahl von Lungentumoren untersucht und das Ergebnis in Tabelle 19 zusammengefasst. Dazu ist folgendes zu bemerken: Da die Merkmale für die histologischen Klassen A und B, sowie C und D oft fließend ineinander übergehen, wurden sie, zusammen mit den ihnen entsprechenden Grössenklassen, zu einer einzigen Gruppe zusammengefasst. Dagegen sind die Unterscheidungskriterien zwischen den Klassen B und C, wie Einheitlichkeit, Papillarisierung, Zellform, Randkompression (s. Tabelle 10) eindeutig genug, um eine Grobklassierung zur Beurteilung der Übereinstimmung von Tumortyp und Grössenklasse vornehmen zu können.

Eine therapiebedingte Störung der Tumor-Differenzierungsvorgänge müsste sich im vermehrten Auftreten zu grosser Tumore eines bestimmten Tumortyps äussern, der normalerweise einer kleineren Grössenklasse angehören würde. Falls die Therapie andererseits in der Lage ist, grosse Tumore einzuschmelzen, müssten entwicklungs-mässig späte Tumorstadien zu klein ausfallen.

Solche eindeutigen Tendenzen konnten auf Grund unserer Proben nicht festgestellt werden. Die stärkste Abweichung wurde nach der konventionellen Therapie festgestellt, wo 3 von 10 untersuchten Tumoren grösser waren, als es der Norm für die histologische Klasse entspricht. Bei der mit Chlorpromazin kombinierten konventionellen Strahlentherapie war das lediglich in 1 von 11 untersuchten Tumoren der Fall. Für die beiden superfraktioniert bestrahlten Gruppen ergaben sich keine Abweichungen und bei den Kontrollgruppen liegen die geringen Abweichungen in dem aus früheren Untersuchungen bekannten Rahmen. Generell kann also gesagt werden, dass eine recht gute Übereinstimmung von Grössenklasse und Tumortyp festzustellen ist, so dass auch hier die Auswertung nach den im Kapitel 2 definierten Grössenklassen sinnvoll scheint.

Extrapoliert auf die Gesamtheit der Daten bedeutet das, dass an-

genommen werden kann, dass der erhöhte Anteil kleinerer Tumore nach der Therapie (s. Abbildung 41 unten) auf eine Entwicklungsverzögerung zurückzuführen ist, die in der posttherapeutischen Phase nicht, und je nach Therapieform auch unterschiedlich stark, aufgeholt werden kann. Besonders stark scheint die Entwicklungsverzögerung durch die mit Chlorpromazin kombinierte konventionelle Therapie zu sein, wo 80% der Tumore nach der Therapie der kleinsten Grössenklasse angehören, während es bei den anderen Therapieverfahren jeweils nur etwa 40% sind.

Bei der histologischen Beurteilung wirken sich v.a. bei kleinen Tumorherden die von der Färbetechnik herrührenden Tusche-partikel (s. Kapitel 2.2), die sich in den Alveolen festgesetzt haben, etwas nachteilig aus. Dennoch lässt das histologisch unveränderte Erscheinungsbild grösserer Tumore und das Fehlen erkennbarer Nekroseherde darauf schliessen, dass vor allem die kleinen Tumore durch die Bestrahlung eingeschmolzen werden, grössere Tumore aber in ihrem Wachstum und eventuell auch in ihrer Differenzierungsfähigkeit verzögert werden können. Zum Zeitpunkt der Beurteilung war keine der untersuchten Lungen fibrotisch verändert.

Der Allgemeinzustand der Tiere während und nach der Therapie war gut; von den insgesamt 48 therapierten Tieren starb lediglich eines aus der Gruppe, die superfraktioniert bestrahlt wurde, vermutlich an einer Kreislaufschwäche. Allerdings war für alle bestrahlten Tiere während der 6-wöchigen Therapie eine deutliche Gewichtsabnahme zu verzeichnen (Abbildung 42), die interessanterweise bei allen Therapieansätzen ähnlich verlief. Dies ist offensichtlich eine Auswirkung vermehrter Sedierung durch die Medikation und dadurch bedingte geringere Nahrungsaufnahme. Nach Absetzen der Therapie setzte eine deutliche Erholung ein, so dass das normale Körpergewicht 10 Wochen nach Ende der Therapie beinahe wieder erreicht war.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass diese vorläufigen Therapieresultate ermutigen, mit dem Mauslungen-System die Problematik der Fraktionierung und der medikamentösen Unterstützung der Strahlentherapie innerer Organe eingehender zu untersuchen. Insbesondere interessieren allfällige Dosismodifikations-

Möglichkeiten durch die Anwendung wirksamerer Therapieschemata. Besonderes Augenmerk ist dabei auf die Tatsache zu richten, dass Chlorpromazin offensichtlich gerade für eine Multifraktionierung günstige Voraussetzungen schafft. Entsprechende Studien müssten eine direkte Verlaufskontrolle des Tumorverhaltens während der Therapie ermöglichen, die Strahlenreaktion der Tumore histopathologisch genau erfassen, sowie auch die Reaktion des gesunden Gewebes (Späteffekte) auf unterschiedliche Therapieansätze prüfen.

L i t e r a t u r

LITERATUR-VERZEICHNIS

ADAMSON, J.S.; R.M. SENIOR; T. MERILL

Alveolar Cell Carcinoma. An Electron Microscopic Study.
Am. Rev. Resp. Dis. 100: 550-557 (1969)

ALA-KETOLA, L.; R. VARIS; K. KIVINIITTY

Effect of ascorbic acid on the survival of rats after whole body irradiation.
Strahlentherapie 148: 643-644 (1974)

ALEXANDROV, V.A.; F.K. DZHIOEV

An inhibitory effect of a number of substances on the embryotoxic and teratogenic action of Methylurea and Sodium Nitrite.
Byull. Eksper. Biol. Med. 83(1): 75-77 (1977)

AMMON, R. (ed.)

Fermente, Hormone, Vitamine.
Vol. 3(1), 3. Auflage, Thieme-Verlag Stuttgart (1974)

AMMON, P.T. (ed.)

Arzneimittelneben- und wechselwirkungen.
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart,
p. 76 ff (1981)

ANDREWS, CH.E.; W.K.C. MORGAN

Tumors of the lung other than bronchiogenic carcinoma.
Textbook of Pulmonary Diseases (G.L.BAUMANN, ed.), 2nd edition,
Little, Brown & Co, Boston, Mass. (1974)

ANG, K.K.; E. VAN DER SCHUEREN, G. NOTTER

Split course multiple daily fractionated radiotherapy combined with misonidazole for the management of grade III and IV gliomas.
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8(10): 1657-1664 (1982)

ANTHONY, H.M.; C.S. SCHORAH

Severe hypovitaminosis C in lung-cancer patients: the utilization of vitamin C in surgical repair and lymphocyte-related host resistance.
Br. J. Cancer 46: 354-367 (1982)

ARCANGELI, G.; F. MAURO, D. MORELLI, C. NERVI

Multiple daily fractionation in radiotherapy: Biological rationale and preliminary clinical experiences.
Eur. J. Cancer 15(9): 1077-1083 (1979)

AWWAD, H.; H.A. EL-BAKI; E. BOLKAINY

Pre-operative irradiation of T3-carcinoma in bilharzial bladder: A comparison between hyperfractionation and conventional fractionation.

Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 5(6): 787-794 (1979)

BARTLETT, G.L.

Absence of thymic involvement in the inhibition of Urethan lung adenomagenesis by X-irradiation.

Int. J. Cancer 5: 384-388 (1970)

BARTLETT, G.L.

Recovery from the inhibitory effect of X-radiation on Urethan lung adenomagenesis.

Int. J. Cancer Res. 6: 56-62 (1970)

BATSCHULET, E

Introduction to mathematics for life scientists.

Springer (1971), p. 331-334

B.A.U. (Bundesamt für Arbeitsschutz und Unfallforschung, Dortmund)

Krebserzeugende Arbeitsstoffe.

Schriftenreihe "Gefährliche Arbeitsstoffe", Nr. 2, Wirtschaftsverlag NW, Bremerhaven (1981)

BHIDE, S.V.

Some preliminary observations on the binding of Urethan to DNA of several tissues of mice and rats.

Indian J. Cancer 8: 172-175 (1971)

BOOTH, J.; E. BOYLAND

The reaction of the carcinogenic Dibenzcarbazoles and Dibenzacridines with Purines and Nucleic Acid.

Biochim. Biophys. Acta 12: 75-87 (1953)

BOYLAND, E.; R. NERY

The metabolism of urethane and related compounds.

Biochem. J. 94: 198-208 (1965)

BOYLAND, E; K. WILLIAMS

Reaction of Urethane with nucleic acids in vivo.

Biochem. J. 111: 121-127 (1969)

BRIZZEE, K.R.; R.B. BRANNON

Cell recovery in foetal brain after ionizing radiation.

Int. J. Radiat. Biol. 21: 375-388 (1972)

BUCKINGHAM, S.; H.O. HEINEMANN; S.C. SOMMERS; W.C. McNARY

Phospholipid synthesis in the large pulmonary alveolar cell.
Amer. J. Pathol. 48: 1027-1041 (1966)

BURG, A.W.; E. WERNER

Tissue distribution of caffeine and its metabolites in mouse.
Biochemical Pharmacology 21: 923-936 (1972)

CAMERON E.; PAULING L.; LEOVITZ B.

Ascorbic acid and cancer. A review.
Cancer Res. 36: 633 (1979)

CAMERON, E.; PAULING L.

The orthomolecular treatment of cancer: 1. The role of ascorbic acid in host resistance.
Chem. Biol. Interactions 9: 273-283 (1974)

CASTERA, D.; M. LEGROS, J. MOUILLET

Hyperfractionated radiotherapy in 56 patients with tumors of the head and neck.
J. Radiol. Electrol. Med. Nucl. 59(11): 611-614 (1978)

CHIECO-BIANCHI, L.; G. DE BENEDICTIS; G. TRIDENTE; L. FIORE-DONATI

Influence of age on susceptibility to liver carcinogenesis and skin initiating action by Urethane in Swiss mice.
Brit. J. Cancer 17: 672-680 (1964)

CHOI, C.H.; H.D. SUIT

Evaluation of rapid radiation treatment schedules utilizing two treatment sessions per day.
Radiology 116: 703-713 (1975)

COALSON, J.J.; J.A. MOHR; J.K. PIRTLE; A.L. DEE

Electron microscopy of neoplasms in the lung with special emphasis on the alveolar cell carcinoma.
Am. Rev. Resp. Dis. 101: 181-197 (1970)

COGGLE, J.E.; D.M. PEEL

Relative effects of uniform and non uniform external radiation on the induction of lung tumors in mice.
IAEA-SM-224/205: 83-94 (1978)

CORNMAN, I

The properties of Urethan considered in relation to its action on mitosis.
International Review of Cytology (ed. BOURNE, G.H.; J.F. DANIELLI), Vol. 3: 113-130 (1954)

DAMSKER, J.F.; R. MACKLIS; L.W. BRADY; E.A. NODIFF

Radiosensitization of malignant melanoma. The effect of 7-Hydroxy-chlorpromazine on the in vitro radiation response of Fortner's melanoma.

Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 4: 821-824 (1978)

DANI, R.; H.M. DANI

Effects of toxic doses of Urethane on rat liver and lung microsomes.

Toxicology Letters 15: 61-64 (1983)

DELLA PORTA, G.; J. CAPITANO; P. STRAMBIO DE CASTILLIA

Studies on leukemogenesis in Urethan-treated mice.

Acta Un. Int. Canc. 29: 1107-1121 (1963)

DIENER, E.

Die Beeinflussung der Kanzerogenese durch Applikation ionisierender Strahlen in utero während der Embryonalentwicklung.

Zeitschrift für Krebsforschung 65: 607-619 (1963)

DI PADLA, M; A. BERTOLOTTI; S. COLIZZA; M. COLI

Histology of bronchial carcinoma and regional lymph nodes as putative immune response of the host to the tumour.

J. Thor. Cardiovasc. Surg. 73: 531 (1977)

DOLE, S.R.

The pulmonary adenoma of the mouse: A simple model of its growth based on scanning electron microscopy. Thesis.

Publication of the Lawrence Berkeley University of California, LBL-5624 (1977)

DOUGLAS, B.G.; A.J. WORTH

Superfractionation in glioblastoma multiforme. Results of a phase II study.

Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8(10): 1787-1794 (1982)

DOURSON, M.L.; L. STUART-BAXTER

Reduced prevalence and growth of urethane induced adenomas in ageing adult strain A mice.

Toxicology 20: 165-172 (1981)

DYSON, P.; A.G. HEPPLESTON

Cell kinetics of urethane induced murine pulmonary adenomata:

I. The growth rate

Br. J. Cancer 31: 405-416 (1975)

II. The growth fraction and cell loss factor

Br. J. Cancer 33: 33: 105-111 (1976)

III. Implications of the disparity between the rates of entry into DNA synthesis and into mitosis

Br. J. Cancer 36: 215-220 (1977)

EDSMYR, F.; P.L. ESPOSTI, G. GIERTZ, B. LITTBAND

Radiation treatment of urinary bladder carcinoma.
Urol. Res. 6(4): 229-232 (1978)

ELION, G.B.; S. BIEBER; G.H. HITCHINGS

Studies on the mechanism of action of urethane on mammary adenocarcinoma 755.
Acta Un. int. Cancr. 16: 605-608 (1960)

ELLIS, F

Heat wave deaths and drugs affecting temperature regulation.
Br. Med. J. 2: 474 (1976)

EVANS, M.J.; L.J. CABRAL; R.J. STEPHENS; G. FREEMAN

Renewal of alveolar epithelium in the rat following exposure to NO₂.
Am. J. Pathol. 70: 175-198 (1973)

FAIRCHILD, E.J. (1978)

Suspected carcinogens. A sourcebook of the toxic effects of chemical substances.
Castle House Publications Ltd., London (1978)

FISCHER, E.

Ueber die Bildung von Carbamidsäureäthylester (Urethan) in Getränken nach Behandlung mit Pyrokohlensäurediäthylester.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 148: 221-222 (1972)

FOLEY, W.A.; L.J. COLE

Inhibition of Urethan lung tumor induction in mice by total-body X-radiation.
Cancer Res. 23: 1176-1180 (1963)

FOLEY, W.A.; L.J. COLE; B.J. INGRAM; T.T. CROCKER

X-ray inhibition of urethane-stimulated proliferation of lung cells of the mouse as estimated by incorporation of tritiated thymidine.
Nature 199: 1267-1268 (1963)

FOLEY, W.A.; L.J. COLE

Interaction of Urethan and fractionated or regional X-radiation in mice: Lung tumor and leukemia incidence.
Cancer Res. 24: 1910-1917 (1964)

FOLEY, W.A.; L.J. COLE

Urethan-induced lung tumors in mice: X-radiation dose-dependent inhibition.
Radiat. Res. 27: 87-91 (1966)

FREEMAN, J.T.; R. HAFKERSBRING

Comparative studies of ascorbic acid levels in gastric secretion and blood.

J. Gastrointestinal Diseases 32: 87 (1975)

FRITZ-NIGGLI, H.

Die besonderen biomedizinischen Eigenschaften der Pionenbestrahlung: Ergebnisse der präklinischen Experimente am SIN.

Jahrbuch SGRNM: 95-108 (1978)

FRITZ-NIGGLI, H.

Biological Properties of Single- and Multiple Pion Beams: Studies on Repair, RBE and OER with Mutation Induction (Drosophila), Mouse Foot and Mammalian Cells.

Pion and Heavy Ion Radiotherapy (ed. L.D. SKARSGARD), Proc. Int. Workshop, Vancouver, July 29-31, 1981. Elsevier Biomedical, New York: 219-228 (1983)

FUJIWARA, Y; T. KONDO

Caffeine-sensitive repair of Ultraviolet-damaged DNA of mouse L-cells.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 47: 557-564 (1972)

GEHR, P.; M. BACHOFEN; E.R. WEIBEL

The normal human lung: Ultrastructure and morphometric estimation of diffusion capacity.

Respir. Physiol. 32: 121 (1978)

GEORGE, K.C.; V.T. SRINIVASAN, B.B. SINGH

Cytotoxic effect of chlorpromazine and its interaction on a mouse fibrosarcoma.

Int. J. Radiat. Biol. 38(6): 661-665 (1980)

GOLDFISCHER, S.; Y. KIKKAWA; L. HOFFMAN

The demonstration of acid hydrolase activities in the inclusion bodies of type II alveolar cells and other lysosomes in the rabbit lung.

J. Histochem. Cytochem. 16: 102-109 (1968)

GOODMAN, L.S.; A. GILMAN

The Pharmacological Basis of Therapeutics.

Mc Millan, London, Toronto (1975)

GORELIK, E.; R.B. HERBERMAN

Inhibition of mouse natural killer cells by Urethan.

J. Natl. Cancer Inst. 66: 543-548 (1981)

GORELIK, E.; R.B. HERBERMAN

Susceptibility of various strains of mice to Urethan-induced lung tumors and depressed natural killer cell activity.
J. Natl. Cancer Inst. 67: 1317-1322 (1981)

HAJES, D.M.; J. GILL; E.R.WEIBEL

Morphometric study of rat lung cells. Numerical and dimensional characteristics of parenchymal cell population.
Am. Rev. Respir. Dis. 123: 533 (1981)

HATTORI, S.; M. MATSUDA; A. WADA

An electron microscopic study of pulmonary adenomas in mice.
Gann 56: 275-280 (1965)

HAYASHI, Y.; K. HOSHINO, Y. KAMEYAMA

Effects of low-dose X-irradiation on the developing brain in mice. - Dendritic arborization of pyramidal cells after birth.
J. Radiat. Res. 20: 16 (1979)

HAYASHI, Y.; K. HOSHINO, Y. KAMEYAMA

Effects of low-dose X-irradiation on the developing brain in mice. - Dendritic arborization of pyramidal cells after birth. (The 2nd report)
J. Radiat. Res. 22: 48-49 (1981)

HENRY, C.J.; L.H. BILLUPS; M.D AVERY; T.H. RUDE; D.R. DANSIE; A. LOPEZ; B. SASS; C.E. WHITMIRE; R.E. KOURI

Lung Cancer Model System using 3-Methylcholanthrene in Inbred Strains of Mice.
Cancer Res. 41: 5027-5032 (1981)

HOSHINO, K.; Y. HAYASHI, Y. KAMEYAMA

Effect of low-dose X-radiation on the developing brain in mice. - Autoradiographic observations of the cerebral cortical architecture.
J. Radiat. Res. 21: 30 (1980)

HOSHINO, K.; Y. HAYASHI, Y. KAMEYAMA

Effect of low-dose X-radiation on the developing brain in mice. - Autoradiographic observations of the cerebral cortical architecture (succeeding report).
J. Radiat. Res. 22: 48 (1981)

I.A.R.C. (International Agency for Research in Cancer)

Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man.
World Health Organization, Lyon, 1 (1972) - 18 (1978)

I.A.R.C. (International Agency for Research in Cancer)

Chemicals with sufficient evidence of carcinogenicity in experimental animals.

I.A.R.C. Internal Technical Report, No. 78/003, Lyon (1978)

JACOBSEN, L.

Low-dose embryonic X-radiation in mice and some seasonal effects in the perinatal period.

Radiat. Res. 25: 611-625 (1965)

JACOBSEN, L.

Low-dose X-radiation and teratogenesis. A quantitative experimental study with reference to seasonal influence on dose effects.

Munksgaard, Kopenhagen (1968)

JAKOBSSON, P.A.; B. LITTBAND

Fractionation scheme with low individual tumor dose and high total dose.

Acta Radiol. Ther. 12: 337-346 (1973)

JOHNSON, J.

Swimming and Phenothiazines.

Br. Med. J. 1: 711-712 (1969)

KAKAR, S.C.; C.W.M. WILSON; J.N. BELL

Plasma and leucocyte ascorbic acid concentrations in acute lymphoblastic leukemia.

Irish J. Med. Sci. 144: 227 (1975)

KAKAR, S.C.; C.W.M. WILSON

Ascorbic acid metabolism in human cancer.

Proc. Nutr. Soc. 33: 110A (1974)

KAKAR, S.C.; C.W.M. WILSON; M.J. MORIARTY

The relationship between cancer, radiotherapy and vitamin C.

Irish J. Med. Sci. 146: 289-294 (1977)

KAKUNAGA, I.

Caffeine inhibits cell transformation by 4-Nitroquinoline-1-oxide.

Nature 258 248-250 (1975)

KAUFFMANN, S.L.

Alterations in cell proliferation in mouse lung following Urethane exposure.

I. The nonvacuolated alveolar cell.

Am. J. Pathol. 54: 83-93 (1969)

II. Effects of chronic exposure on terminal bronchiolar epithelium.

Am. J. Pathol. 64: 531-538 (1971)

III. Effects of chronic exposure on type 2 alveolar epithelial cells.

Am. J. Pathol. 68: 317-326 (1972)

KAYE, A.M.

Urethan carcinogenesis and nucleic acid metabolism: In vivo incorporation of pyrimidines-¹⁴C and urethan-¹⁴C into mouse organs. Cancer research 28: 1047-1054 (1968)

KLEIN, M.

Induction of lymphatic neoplasms, hepatomas and other tumors after oral administration of Urethan in infant mice.

J. Natl. Cancer Inst. 29: 1035-1046 (1962)

KLEIN, M.

Influence of age on induction with Urethan of hepatomas and other tumors in mice.

J. Natl. Cancer Inst. 36: 1111-1120 (1966)

KOTALIK, J.F.

Multiple daily fractions in radiotherapy.

Cancer Treatment Reviews 8: 127-146 (1981)

LAWSON, T.A.; A.W. POUND

The prolonged binding of ethyl carbamate-¹⁴C to DNA in regenerating and intact mouse liver.

European J. Cancer 9: 491-496 (1973)

LITTBRAND, B.

Survival characteristics of mammalian cell lines after single or multiple exposures to Roentgen radiation under oxic and anoxic conditions

Acta Radiol. Ther. 9: 157 (1970)

LITTBRAND, B.; F. EDSMYR

Preliminary results of bladder carcinoma irradiated with low individual doses and high total dose.

Int. J. Radiat. Biol. 1: 1059-1062 (1976)

LÖFROTH, G.; T. GEJVALL

Diethyl pyrocarbonate: Formation of urethan in treated beverages. Science 174: 1248-1250 (1971)

LOISELEUR, J.; G. VELLEJ

Traitement curatif des radiolesions consecutives a l'administration d'une dose lethale de rayons.

Comptes rendues de l'academie des sciences 231: 529-530 (1952)

LOOSLI, R.; P. LOUSTALOT, W.R. SCHALCH, K. SIEVERS, E.G. STEAGER

Proceedings European Society for study of drug toxicity 4: 214-216 (1964)

LUCKEY, T.D.

Hormesis with ionizin radiation.
Boca Raton, Florida, CRC Press (1980)

MALKINSON, A.M.

Genetic and environmental modulation of Urethane-induced mouse lung adenomas.
Fed. Proc. 42(4): 1022 (1983)

MALKINSON, A.M.

Modulation of the incidence of Urethane induced mouse lung adenomas by Butylated Hydroxytoluene (BHT).
Proc. West. Pharmacol. Soc. 26: 417-419 (1983)

MALKINSON, A.M.; D.S. BEER

Major effect on susceptibility to Urethan-induced pulmonary adenoma by a single gene in BALB/cBy mice.
JNCI 70(5): 931-936 (1983)

MATSUYAMA, M.; H. SUZUKI; I. NAKAMURA

Carcinogenesis in dd/l mice injected during suckling period with urethane, nitrogen mustard N-oxide and nitroso-urethane.
Br. J. Cancer 23: 167-171 (1969)

MEDINI, E.; Y. RAO; T. KIM

Radiation therapy for advanced head and neck squamous-cell carcinoma using twice-a-day fractionation.
Radiology 134: 531-532 (1980)

MERCK

The Merck Index, Merck & Co., 9th ed., Rahaway N.J.: p 1267 (1976)

MICHEL, C; H. FRITZ-NIGGLI

Radiation damage in mouse embryo exposed to 1 rad X-rays or negative pions.
Fortschr. Röntgenstr. 127(3): 276-280 (1977)

MICHEL, C; H. FRITZ-NIGGLI

Induction of developmental anomalies in mice by maternal stress.
Experientia 34: 105-106 (1978)

MIGLOZZI, A

Effect of ascorbic acid on tumor growth.
Br. J. Cancer 35: 448 (1977)

MIRVISH, S.S.

The carcinogenic action and metabolism of urethan and N-hydroxy-urethan.

Adv. Cancer Res. 11: 1-42 (1968)

MOERTEL, G.C.; T.R. FLEMING; E.I. CREAGAN; J.P. RUBIN; M.J. O'CONNELL; M.M. AMES

High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double-blind comparison.

N. Engl. J. Med. 312(3): 137-141 (1985)

NETTLESHIP, A.; P.S. HENSHAW

Induction of pulmonary tumors in mice with ethyl carbamate (urethane).

J. Natl. Cancer Inst. 4: 309-319 (1943)

NISHIMURA, H.; M. KUGINUKI

Congenital malformations induced by ethyl-urethan in mouse embryos.

Okajimas Folia Anat. Jap. 31: 1-10 (1958)

NISHIMURA, H.; K. NAKAI

Congenital malformations in offspring treated with caffeine.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104: 140-142 (1960)

NOMURA, T.

Inhibitory effect of caffeine on chemical carcinogenesis in mice.

Cancer Res. 18: 244 (1977)

NOMURA, T.

Mutagenesis, teratogenesis and carcinogenesis; evidence obtained by caffeine post-treatment after carcinogens.

Proc. 6th Perugia quadrennial conference on cancer.

L. SEVERI (ed.), Perugia (1978)

NOMURA, T.

Timing of chemically induced neoplasia in mice revealed by the antineoplastic action of caffeine.

Cancer Res. 40(4): 1332-1340 (1980)

NORIN, T.; J. ONYANGO

Radiotherapy in Burkitt's lymphoma. Conventional or superfractionated regime - early results.

Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2(5-6): 399-406 (1977)

PERACCHIA, G.; C. SALTI

Radiotherapy with twice-a-day fractionation in a short overall time: clinical experiences.

Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 7: 99-104 (1980)

PINKETT, M.O.; C.R. CROWDREY; P.C. NOWELL

Mixed hematopoietic and pulmonary origin of "alveolar macrophages" as demonstrated by chromosome markers.
Am J. Pathol. 48: 859-867 (1966)

PRODI, G; P. ROCCHI; S. GRILLI

In vivo interaction of urethan with nucleic acids and proteins.
Cancer Res. 30: 2887-2892 (1970)

RAO, K.R.; H. FRITZ-NIGGLI

Rutoside and X-ray induced damage in jejunal mucosa of mouse.
Strahlentherapie 160(10): 624-626 (1984)

RECHSTEINER, R.

Beeinflussung der Strahlenschädigung von Mäuseembryonen durch Vitamin C.
Dissertation, Strahlenbiologisches Institut der Universität Zürich (1978)

ROTWELL, K

Dose-related inhibition of chemical carcinogenesis in mouse skin by caffeine.
Nature 252: 69-70 (1974)

RUGH, R.

The mouse. Its reproduction and development. Burgess Publishing Co., Minneapolis; Library of Congress Catalog Card No. 67-26607 (1968)

RYAN, U.S.; J.W. RYAN; D.S. SMITH

Alveolar type II cells: Studies on the mode of release of lamellar bodies.
Tissue Cell 7(3): 587-599 (1975)

SALAMAN, M.H.; F.J.C. ROE

Incomplete carcinogenesis: Ethyl carbamate (Urethane) as an initiator of skin tumor formation in the mouse.
Brit. J. Cancer 7: 472-481 (1953)

SCHULIZ, U.; M. BAMBERG; G. NOTTER, E. SCHERER

Die klinische Bedeutung der zeitlichen Dosisverteilung in der Radiotherapie.
Strahlentherapie 158(11): 639-645 (1982)

SHENOY, M.A.; B.B. SINGH

Cytotoxic and radiosensitizing effects of Chlorpromazine Hydrochloride in sarcoma 180A.
Indian J. of Exper. Biol. 18: 791-795 (1980)

SHIMKIN, M.B.; M.J. POLISSAR

Some quantitative observations on the induction and growth of primary pulmonary tumors in strain A mice receiving Urethan. J. Natl. Cancer Inst. 16(1): 75-97 (1955)

SHIMKIN, M.B.; T. SASAKI; M. Mc DONOUGH; R. BASERGA, D. THATCHER; R. WIEDER

Relation of Thymidine Index to pulmonary tumor response in mice receiving Urethan and other carcinogens. Cancer Res. 29: 994-998 (1969)

SHIMKIN, M.B.; G.D. STONER

Lung tumors in mice: Application to carcinogenesis bioassay. Adv. Cancer Res. 21: 1-58 (1975)

SHUKOVSKY, L.J.; G.H. FLETCHER; E.D. MONTAGUE; H.R. WITHERS

Experience with twice-a-day fractionation in clinical radiotherapy. Amer. J. Roentgenol. 126: 155-162 (1976)

SHOEMAKER, J.P.

Fifty-five percent complete remission of mammary carcinoma in mice with 5-Fluoro-uracil and Chloroquine. Cancer Res. 38: 2700-2702 (1978)

SHOEMAKER, J.P.; R.F. DAGHER

Remission of mammary adenocarcinoma in hypothyroid mice given 5-Fluorouracil and Chloroquine phosphate. J. Natl. Cancer Inst. 62: 1575-1578 (1979)

SIDEROPOULOS, A.S. ; S.M. SPECHT; M.T. JONES

Feasibility of testing DNA repair inhibitors for mutagenicity by a simple method. Mutat. Res. 74: 95-105 (1980)

SIMPSON, W.J.; M.E. PLATTS

Fractionation study in the treatment of glioblastoma multiforme. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1: 639-644 (1976)

SKIPPER, H.E.; L.L. BENNETT; C.E. BRYAN; L. WHITE; M.A. NEWTON; L. SIMPSON

Carbamates in the chemotherapy of leukemia. VIII. Over-all tracer studies on carbonyl-labeled urethan, methylene-labeled urethan, and methylene-labeled alcohol. Cancer Res. 11: 46-51 (1951)

SMITH, G.P.

Scanning electron microscope surface morphometry of type II alveolar lung cell response to Urethane in strain A mice. Scanning Electr. Microscopy 3: 905 (1979)

SMITH U.; J.W.RYAN

Electron microscopy of endothelial and epithelial components of the lungs: Correlation of structure and function.
Fed. Proc. 32(9): 1957-1966 (1973)

SOROKIN, S

A morphologic and cytochemical study on the great alveolar cell.
J. Histochem. Cytochem. 14: 884-897 (1966)

STRATTON, C.J.

The periodicity and architecture of lipid retained and extracted lung surfactant and its origin from multilamellar bodies.
Tissue Cell 9: 301 (1977)

SVOBODA, D.J.

Ultrastructure of pulmonary adenomas in mice.
Cancer Res. 22: 1197-1201 (1962)

TANNENBAUM, A.; H. SILVERSTONE

Urethan (Ethyl Carbamate) as a multipotential carcinogen.
Cancer Res. 18: 1225-1231 (1958)

TEWFIK, H.H.; F.A. TEWFIK; E.F. RILEY; C.R. MITAL

The influence of ascorbic acid on survival of mice following whole body X-radiation.
Radiat. Res. 70: 660 (1977)

THEISS, J.C.; M.B. SHIMKIN

Inhibiting effect of caffeine on spontaneous an Urethan-induced lung tumors in strain A mice.
Cancer Res. 38: 1757-1761 (1978)

TOTH, B.

Formylhydrazine Carcinogenesis in Mice.
Br. J. Cancer 37: 960-964 (1978)

TUKEY, J.W.

Exploratory data analysis.
Addison-Wesley, Reading, Massachusetts: chapters 2-4 and 7 (1977)

UDALOVA, L.D.

The effect of chloroquine on the embryonal development of rats.
Pharmacol. Toxicol. (Russ.) 2: 226-228 (1967)

UZVÖLGYI, E.; E. BOJAN

Possible in vivo formation of a carcinogenic substance from diethyl pyrocarbonate and ammonia.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 97(2): 205-209 (1980)

VESELINOVITCH, S.D.; E.SIMMONS; K.V.N. RAO; N. MIHAILOVICH

Carcinogenic hazards of irradiation during embryonal development in mice.

Radiat. Res. 59(1): 101-102 (1974)

VOELKER, D.R.

Pulmonary surfactant lipid metabolism in the alveolar type II cell adenoma.

University of Tennessee, Dissertation, University Microfilms International (1978)

VON ALBERTINI, A.

Lunge und Bronchien.

Histologische Geschwulst diagnose, 2. Auflage, Thieme (1974), p. 70-94

WAMBERSIE, A.; J. DUTREIX

Donnees radiobiologiques concernant le multifractionnement et l'effet differentiel.

J. Eur. Radiother. 3(2): 63-72 (1982)

WHITE, A.; A. GRENDON; H.B. JONES

Effects of Urethane dose and time patterns on tumor formation. 5th Berkeley Symposium on mathematical statistics and probability, 1965.

Univ. of California press 6: 721-743 (1967)

WILSON, J.G.; J. WARKANY

Teratology: Principles and Techniques.

The University of Chicago Press, Chicago, pp. 251-277 (1965)

WITSCHI, H.P.; P.S. HAKKINEN; J.P. KEHRER

Modification of lung tumor development in A/J mice.

Toxicology 21: 37-45 (1981)

T a b e l l e n

Tabelle 1

Anforderungen an ein für die präklinische Strahlenbiologie
geeignetes Tumorsystem

1. Der Tumor muss nach Applikation eines Induktors mit einer regelmässigen minimalen Häufigkeit auftreten.
2. Die Induktion muss technisch einfach sein.
3. Die Induktion soll möglichst spezifisch sein bezüglich Entstehungsorgan und Tumortyp.
4. Der Tumor soll maligne sein oder zumindest zur Malignität neigen
5. Haematogene Metastasen sollen selten auftreten.
6. Der Allgemeinzustand der Versuchstiere soll möglichst lange unbeeinflusst bleiben.
7. Der Tumor soll mit einfachen und seriemässig einsetzbaren Routinemethoden erfasst werden können (Anzahl, Volumen, Form, Typ).
8. Der Tumor soll vorzugsweise in einer Region wachsen, deren dosimetrische Erfassung für die Bestrahlung ohne grössere Probleme ist.
9. Induzierte Tumoren sollten eine gewisse Strahlenresistenz aufweisen, um eine differentielle Reaktion auf unterschiedliche Therapieschemata zu erlauben.
10. Im Hinblick auf das Erproben von Substanzen, die den Strahleneffekt modifizieren können, soll der Tumor eine relativ gute Blutversorgung aufweisen.
11. Verwendung eines Tierstammes mit relativ geringer spontaner Tumoranfälligkeit.

TABELLE 2 CHEMISCHE STOFFE, DIE AUFGRUND TIEREXPERIMENTELLER BEFUNDE ALS POTENTE KARZINOGENE FÜR INNERE ORGANE (TEIL 1) EINGESTUFT WERDEN KOENNEN.
(Kriterium: Tumorinduktion in > 50 % der Versuchstiere mittels Dosierungen, die keine wesentliche Erhöhung der akuten Letalität zur Folge haben)

STOFFKLASSEN UND SUBSTANZEN	HAUPTSÄCHLICHE VERSUCHSTIERART	VERABREICHUNGSFORM	HAUPTTUMORLOKALISATION	ORGANSPEZIFITÄT	KARZINOGENITÄT FÜR DEN MENSCHEN ¹⁾	AKUTE TOXIZITÄT FÜR DEN MENSCHEN ²⁾	GIFTKL. GEMÄSS EIDS-LISTE ³⁾	LITERATUR-REFERENZ
<u>ANORGANISCHE SUBSTANZEN</u>								
Aethylen-Dibromid	Maus, Ratte	oral	Magen	nein	fraglich	+++	1 e, f	IARC <u>15</u> (1977)
1,2-Dibrom-3-Chlorpropan	Maus	oral	Magen	nein	unbekannt	+	3	IARC <u>15</u> (1977)
Beryllium	Ratte	Langzeit-Inhalation	Lunge	nein	wahrscheinlich	++++	1	IARC <u>1</u> (1972)
Blei-Salze	Maus, Ratte	oral subcutan	Niere	nein	fraglich	+	2	IARC <u>1</u> (1972)
<u>HARNSTOFFDERIVATE</u>								
Thioacetamid	Maus	oral	Leber	nein	unbekannt	+	3	IARC <u>2</u> (1974)
Thiocarbamid	Ratte	oral	Leber	nein	unbekannt	+	3	IARC <u>2</u> (1974)
2-Thiourea (THU)	Maus, Ratte	Intrapertoneal	Lunge	ja	unbekannt	+	1 e	IARC <u>2</u> (1974)
<u>HYDRAZINE</u>								
1,2-Dimethylhydrazin	Maus, Ratte	oral subcutan	Leber Colon	nein	unbekannt	+	1 e, f	IARC <u>4</u> (1974)
Formylhydrazin	Maus	oral	Lunge	ja	unbekannt	+	----	TOTH (1978)
Hydrazin	Maus, Ratte	oral	Leber Colon	nein	unbekannt	+	1 e, f	IARC <u>4</u> (1974)
<u>CHLORIERTE KOHLENWASSERSTOFFE</u>								
Benzen-Hexachlorid	Maus, Ratte	oral	Leber	nein	nachgewiesen	++++	----	IARC <u>5</u> (1974)
Tetrachlor-methan	Maus, Ratte	Inhalation oral subcutan	Leber	nein	unbekannt	++	1 e	IARC <u>1</u> (1972)

TABELLE 2 CHEMISCHE STOFFE, DIE AUFGRUND TIEREXPERIMENTELLER BEFUNDE ALS POTENTE KARZINOGENE FÜR INNERE ORGANE (TEIL 2) EINGESTUFT WERDEN KOENNEN.

(Kriterium: Tumorinduktion in > 50 % der Versuchstiere mittels Dosierungen, die keine wesentliche Erhöhung der akuten Letalität zur Folge haben)

STOFFKLASSEN UND SUBSTANZEN	HAUPTSÄCHLICHE VERSUCHSTIERART	VERABREICHUNGSFORM	HAUPTTUMORLOKALISATION	ORGANSPEZIFITÄT	KARZINOGENITÄT FÜR DEN MENSCHEN ¹⁾	AKUTE TOXIZITÄT FÜR DEN MENSCHEN ²⁾	GIFTKL. GEMÄSS EIDG. LISTE ³⁾	LITERATURREFERENZ
<u>POLYCYCLISCHE AROMATISCHE KOHLENWASSERSTOFFE</u> Benz(a)anthrozen	Maus	oral	Lunge Leber	nein	wahrscheinlich	+	1 e	IARC 3 (1973)
Benz(a)pyren	Div. Säuger	oral intravenös intra-tracheal	Diverse Organe	nein	wahrscheinlich	+	1 e	IARC 3 (1973)
3-Methyl-Cholanthren	Maus	intra-tracheal	Lunge	Ja	unbekannt	+	1 e	HENRY et al. (1981)
<u>N-NITROSO-VERBINDUNGEN</u> N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitroso-Guanidin	Div. Klein-säuger	oral	Magen	nein	unbekannt	+	1 e	IARC 4 (1974)
Diverse Nitrosamine	Div. Klein-säuger Guinea-Pig	subcutan oral	Leber Niere	nein	unbekannt	+++	1	IARC 1 (1972)
N-Nitroso-dl-n-Butylamin	Ratte, Maus	subcutan	Harnblase	nein	unbekannt	+	1 e	IARC 4 (1974)
N-Nitrosomorpholin	Ratte	oral	Leber	nein	unbekannt	+	1 e	IARC 12 (1978)
N-Nitrosomethyl-oethylamin	Ratte	oral	Leber	nein	unbekannt	+++	1 e	IARC 12 (1978)
N-Nitroso-N-Ethylurea	Ratte	oral subcutan	peripheres u. zentrales Nervensystem	nein	unbekannt	+	1 e	IARC 12 (1978)

TABELLE 2 CHEMISCHE STOFFE, DIE AUFGRUND TIEREXPERIMENTELLER BEFUNDE ALS POTENTE KARZINOGENE FUER INNERE ORGANE (TEIL 3) EINGESTUFT WERDEN KOENNEN.

(Kriterium: Tumorinduktion in > 50 % der Versuchstiere mittels Dosierungen, die keine wesentliche Erhöhung der akuten Letalität zur Folge haben)

STOFFKLASSEN UND SUBSTANZEN	HAUPTSÄCHLICHE VERSUCHSTIERART	VERABREICHUNGSFORM	HAUPTS. TUMOR-SPEZIFITÄT	ORGAN-SPEZIFITÄT	KARZINOGENITÄT FÜR DEN MENSCHEN ¹⁾	AKUTE TOXIZITÄT FÜR DEN MENSCHEN ²⁾	GIFTL. GEMÄSS EIDG. LISTE ³⁾	LITERATUR-REFERENZ
N-Nitroso-piperidin	Maus, Ratte	oral subcutan	Leber	nein	unbekannt	+	1 e	IARC 12 (1978)
N-Nitroso-pyrrolidin	Ratte	oral	Leber	nein	unbekannt	+	1 e	IARC 12 (1978)
Streptozotocin	Ratte, Hamster	intravenös	Niere	nein	unbekannt	+	----	IARC 1 (1974) IARC 12 (1978)
DIVERSE SUBSTANZEN Nitrogen mustard (Hydrochlorid)	Maus	subcutan	Lunge	nein	unbekannt	+++	----	IARC 2 (1975)
Nitrogen mustard (N-oxid)	Maus, Ratte	subcutan	Lunge	nein	unbekannt	+++	----	IARC 2 (1975)
Safrol	Maus, Ratte	oral	Leber	nein	unbekannt	+	1 e	IARC 1 (1972)
Uracil mustard	Maus	intraparietal	Lunge	nein	unbekannt	+	----	IARC 2 (1975)

1) Nach Angaben in IARC-Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to man Vol.1-17 (1972-1978)

2) Nach Angaben in MERCK (1976), FAIRCHILD (1978) und B.A.U. (1981)

+ = Hautreizungen oder gesundheitliche Störungen nach intensivem Kontakt nicht ausgeschlossen;

++ = gesundheitliche Schäden wahrscheinlich;

+++ = gesundheitliche Schäden nach Körperkontakt oder Inhalation nachgewiesen;

++++ = Tod aufgrund von oralem Kontakt möglich;

+++++ = Tod durch Kontakt mit kleinen Mengen wahrscheinlich;

3) Die meisten Stoffe, deren Karzinogenität im Tierexperiment nachgewiesen wurde, deren Wirkung auf den Menschen aber nicht bekannt ist, wurden in die Giftklasse 1 aufgenommen. Sie sind mit 'e' gekennzeichnet. Leicht flüchtige Substanzen mit erhöhter Inhalationsgefahr sind mit 'f' gekennzeichnet.

Urethan: Einige Daten

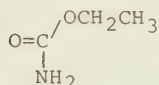
Tabelle 3

Synonyme und Handelsnamen

Aethylcarbamat; Carbaminsäure-Aethylester; Aethylester der Karbaminsäure; Urethan; Aethylurethan (Ph.Helv.V)

Leucothan; Pracarbamin

Chemische Formeln



$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$

MG: 89.1

Herstellung und Eigenschaften

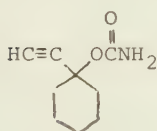
Herstellung: Hochdruckreaktion von Harnstoff mit Aethanol, oder Erwärmen von Harnstoffnitrat in Gegenwart von Aethanol und Natriumnitrit (MERCK, 1976)

Schmelzpunkt: 48-50°C

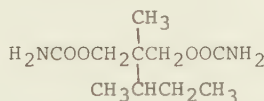
Siedepunkt: 182-184°C

Löslichkeit: (25°C) 1g in 0.5ml Wasser, 0.8ml Aethanol, 0.9ml Chloroform, 1.5ml Aether, 2.5ml Glycerol, 32ml Olivenöl

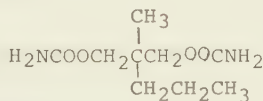
Klinisch angewandte Urethan-Derivate



Ethinamat
(Sedativum)



Mebutamat
(Antihypertensivum)



Meproamat
(Tranquilizer)

Dicarbamate

Im Maus-Experiment auf Karzinogenität geprüfte Urethan-Derivate

(nach MIRVISH, 1968)	Tumorinduktion Haut (nach Pin- selung)	Tumorinduktion Lunge (nach Injektion i.p.)
Urethan (Aethylcarbamat)	+++++	+++++
n-Propylcarbamat	+	+
Allylcarbamat	+	-
N-Hydroxyurethan	+++	++
Methylcarbamat		nicht karzinogen
n-Butylcarbamat		nicht karzinogen
Urethanphosphat		nicht karzinogen

Tabelle 4

Akute Wirkung einer einmaligen i.p. Injektion von Urethan
in adulten NMRI-Mäusen (Weibchen)

Dosierung (mg/g KG)	Wirkungsweise	approximative Wirkungsdauer in Stunden	akute Letalität (innerhalb 24h)
0.8	Sedierung	2.0 h	0 %
1.0	Sedierung Narkose	2.5 h	0 %
1.2	Narkose	3.0 h	0 %
1.4	Narkose	4.0 h	10 %
1.6	Narkose	5-6 h	40 %
1.8	Narkose	> 8 h	70 %
2.0	Narkose	--	100 %

LD₅₀ = 1.6-1.7 mg/g KG

Tabelle 5

Induktion von Lungentumoren durch einmalige i.p. Injektion von 0.8mg/g Urethan und ihre Entwicklung.

Serie Nr.	Wochen nach Inj.	Anzahl Versuchs- tiere	Anzahl Tiere mit Tumoren	% Versuchs- tiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumoren pro Lunge	mittl. Anzahl Tumoren pro Tumoralunge	mittl. Durch- messer in mm/10
<u>Weibchen</u>							
1	5	20	9	45	0.8 (+0.3)	1.8 (+0.4)	3 (+0.3)
2	10	19	13	68	1.7 (+0.5)	2.5 (+0.5)	4 (+0.3)
3	15	19	15	79	3.4 (+0.8)	4.5 (+0.9)	6 (+0.3)
4	20	20	19	95	4.1 (+0.7)	4.3 (+0.7)	6 (+0.4)
5	30	20	20	100	5.1 (+0.4)	5.1 (+0.4)	12.5 (+0.7)
6	40	19	19	100	7.1 (+1.3)	7.1 (+1.3)	11.5 (+0.7)
7	50	19	19	100	6.2 (+0.9)	6.2 (+0.9)	13.8 (+0.7)
8	60	20	20	100	7.0 (+0.9)	7.0 (+0.9)	15.4 (+0.6)
<u>Männchen</u>							
1	5	20	4	20	0.3 (+0.1)	1.3 (+0.2)	4 (+0.5)
2	10	20	10	50	1.0 (+0.3)	2.0 (+0.4)	6 (+0.3)
3	15	20	15	75	2.2 (+0.6)	2.9 (+0.8)	7 (+0.4)
4	20	20	16	80	4.7 (+1.3)	5.8 (+1.5)	7 (+0.3)
5	30	18	15	83	4.7 (+0.5)	5.6 (+1.2)	8 (+0.8)

Tabelle 6

Spontane Tumorrare (Kontrollversuch)

	Alter in Wochen	Wochen im Experiment	Anzahl Tiere	Tiere mit Tumoren	% Tumor- träger	Tumorgrößen in mm	Tumorklokalisation
<u>Weibchen</u>	19	10	30	2	6.7	0.6	Linker Lobus
	29	20	19	1	5.3	0.2	Unterer Lobus
						1.0	Linker Lobus
	39	30	20	1	5.0	1.8	Herzlobus
<u>Männchen</u>	49	40	30	1	3.3	1.6	Linker Lobus
	59	50	29	1	3.5	2.0	Oberer Lobus
	69	60	20	2	10.0	1.0	Linker Lobus
						1.1	Linker Lobus
	39	30	20	1	5.0	0.5	Mittlerer Lobus

Tabelle 7.1

WEIBCHEN		5 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	5	0.8,0.3,0.2,0.3,0.2	0.27,0.01,0.004,0.01,0.004
2	1	0.4	0.03
3	0	-	-
4	2	0.3,0.4	0.01,0.03
5	0	-	-
6	2	0.2,0.2	0.004,0.004
7	1	0.2	0.004
8	2	0.3,0.3	0.01,0.01
9-12	0	-	-
13	1	0.4	0.03
14-16	0	-	-
17	1	0.4	0.03
18	1	0.5	0.07
19-20	0	-	-
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
20	16	0.29 ± 0.03	0.03 ± 0.02
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
9	0.8 ± 0.3	45	I (0.2-0.7): 15 93.7% II (0.8-1.0): 1 6.3% III (1.1-1.6): 0 % IV (1.7-3.4): 0 % V (> 3.4): 0 %

Tabelle 7.2

WEIBCHEN		10 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	3	0.6,0.5,0.2	0.11,0.07,0.004
2	8	0.5,0.4,0.4,0.5,0.5,0.2,0.6,0.4	0.07,0.03,0.03,0.07,0.07,0.004,0.11,0.03
3	5	0.5,0.6,0.2,0.2,0.5	0.7,0.11,0.004,0.004,0.07
4	1	0.4	0.03
5	2	0.3,0.2	0.01,0.004
6	1	0.2	0.004
7	3	0.3,0.3,0.6	0.01,0.01,0.11
8	2	0.8,0.4	0.27,0.03
9	1	0.3	0.01
10-12	0	-	-
13	1	0.2	0.004
14	2	0.3,0.8	0.01,0.27
15	1	0.8	0.27
16-17	0	-	-
18	2	0.8,0.5	0.27,0.07
19	0	-	-
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
19	32	0.44 ± 0.03	0.07 ± 0.02
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
13	1.68 ± 0.5	68.4	I (0.2-0.7): 28 87.5% II (0.8-1.0): 4 12.5% III (1.1-1.6): 0 % IV (1.7-3.4): 0 % V (> 3.4): 0 %

Tabelle 7.3

WEIBCHEN		15 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumurvolumen in mm ³
1	5	0.6,0.5,1.0,0.9,0.4	0.11,0.07,0.52,0.38,0.03
2	9	0.4,0.5,0.4,0.4,0.6, 0.6,0.5,1.0,0.3	0.03,0.07,0.03,0.03,0.11, 0.11,0.07,0.52,0.01
3	2	0.6,0.9	0.11,0.38
4	2	0.5,0.5	0.07,0.07
5	4	0.7,0.7,0.2,0.3	0.18,0.18,0.004,0.01
6	2	0.4,0.2	0.03,0.004
7	3	0.2,0.5,0.5	0.004,0.07,0.07
8	4	0.3,1.1,0.3,0.6	0.01,0.71,0.01,0.11
9	3	0.2,0.7,0.6	0.004,0.18,0.11
10	0	-	-
11	2	0.6,0.4	0.11,0.03
12	0	-	-
13	6	0.6,0.3,0.7,0.3,0.4,1.0	0.11,0.01,0.18,0.01,0.03,0.52
14	1	0.5	0.07
15	0	-	-
16	1	0.7	0.18
17	6	0.8,0.7,0.7,0.4,0.5,0.8	0.27,0.18,0.18,0.03,0.18,0.27
18	14	0.3,1.0,0.6,0.8,1.0, 0.9,0.5,0.7,1.0,0.4, 0.7,1.2,0.7,0.9	0.01,0.52,0.11,0.27,0.52, 0.38,0.07,0.18,0.52,0.03, 0.18,0.91,0.18,0.38
19	0	-	-
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumurvolumen in mm ³
19	64	0.60 ± 0.03	0.17 ± 0.02
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
15	3.37 ± 0.8	79	I (0.2-0.7): 49 76.5% II (0.8-1.0): 13 20.3% III (1.1-1.6): 2 3.2% IV (1.7-3.4): 0 % V (> 3.4): 0 %

Tabelle 7.4

WEIBCHEN		20 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	8	0.7,0.5,0.7,0.8,0.5, 0.6,0.2,0.2	0.18,0.07,0.18,0.27,0.07, 0.11,0.004,0.004
2	7	0.3,0.4,0.7,0.4,0.4, 0.5,0.3	0.01,0.03,0.18,0.03,0.03, 0.07,0.01
3	2	0.6,0.8	0.11,0.27
4	1	0.2	0.004
5	7	0.4,1.1,0.4,0.4,1.2, 0.4,0.4	0.03,0.71,0.03,0.03,0.91, 0.03,0.03
6	3	0.5,0.7,0.8	0.07,0.18,0.27
7	2	0.4,0.5	0.03,0.07
8	2	0.4,0.5	0.03,0.07
9	6	0.4,1.3,1.1,0.4,0.3, 0.3	0.03,1.15,0.71,0.03,0.01, 0.01
10	3	0.2,0.2,0.2	0.004,0.004,0.004
11	1	0.2	0.004
12	2	0.5,0.4	0.07,0.03
13	8	0.6,0.6,0.7,1.0,1.2, 0.4,0.7,0.7	0.11,0.11,0.18,0.52,0.91, 0.03,0.18,0.18
14	5	0.7,0.8,0.9,0.9,0.7	0.18,0.27,0.38,0.38,0.18
15	0	-	-
16	1	0.6	0.11
17	8	0.2,0.8,0.2,0.2,1.1, 0.5,0.6,0.4	0.004,0.27,0.004,0.004, 0.71,0.07,0.11,0.02
18	11	1.5,2.0,0.9,1.0,0.4, 0.8,0.5,1.0,1.0,0.4, 0.2	1.77,4.18,0.38,0.52,0.03, 0.27,0.07,0.52,0.52,0.03, 0.004
19	1	0.2	0.004
20	3	0.7,0.3,1.0	0.18,0.01,0.52
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
20	81	0.60 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.06
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
19	4.05 $\pm$ 0.7	95	I (0.2-0.7): 59 72.8% II (0.8-1.0): 14 17.3% III (1.1-1.6): 7 8.7% IV (1.7-3.4): 1 1.2% V (> 3.4): 0 %

Tabelle 7.5

WEIBCHEN		30 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchs- tier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumorumvolumen in mm ³
1	2	2.8,2.7	11.49,10.31
2	2	1.5,1.7	1.77,2.57
3	8	1.4,0.5,1.9,1.5,0.2, 2.0,0.9,1.0	1.44,0.07,3.59,1.77,0.004, 4.19,0.38,0.52
4	3	1.9,1.9,0.5	3.59,3.59,0.07
5	2	2.6,1.7	9.20,2.57
6	1	1.5	1.77
7	8	0.7,2.8,1.8,2.1,3.0, 1.8,2.0,1.2	0.18,11.49,3.05,4.85,14.14, 3.05,4.19,0.91
8	3	0.6,3.9,3.3	0.11,31.06,18.82
9	1	1.7	2.57
10	13	1.9,2.2,1.4,2.0,2.0, 2.7,2.0,2.1,3.0,1.6, 1.5,1.4,1.9	3.59,5.58,1.44,4.19,4.19, 10.31,4.19,4.85,14.14,2.14, 1.77,1.44,3.59
11	2	0.6,0.4	0.11,0.03
12	6	1.1,1.7,0.5,1.2,0.9, 1.5	0.71,2.57,0.07,0.91,0.38, 1.77
13	5	0.8,0.9,1.0,0.8,0.4	0.27,0.38,0.52,0.27,0.03
14	15	0.6,0.8,0.8,0.7,0.7, 1.2,0.3,0.7,1.2,1.0, 0.6,0.4,0.7,1.0,0.7	0.11,0.27,0.27,0.18,0.18, 0.91,0.01,0.18,0.91,0.52, 0.11,0.03,0.18,0.52,0.18
15	12	1.1,0.4,1.3,0.8,0.8, 1.5,2.5,1.0,0.8,0.8, 0.4,0.6	0.71,0.03,1.15,0.27,0.27, 1.77,8.18,0.52,0.27,0.27, 0.03,0.11
16	1	0.3	0.01
17	8	1.1,0.7,0.6,0.8,0.6, 0.6,0.9,0.6	0.71,0.18,0.11,0.27,0.11, 0.11,0.38,0.11
18	1	1.0	0.52
19	1	0.7	0.18
20	7	1.1,0.9,0.6,0.6,0.7, 0.7,0.3	0.71,0.38,0.11,0.11,0.18, 0.18,0.01
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumorumvolumen in mm ³
20	101	1.25 ± 0.07	2.43 ± 0.45
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
20	5.1 ± 0.4	100	I (0.2-0.7): 33 32.7% II (0.8-1.0): 20 19.8% III (1.1-1.6): 19 18.8% IV (1.7-3.4): 28 27.7% V (> 3.4): 1 1.0%

Tabelle 7.6

WEIBCHEN		40 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	2	0.7, 1.0	0.18, 0.52
2	14	1.0, 1.0, 1.0, 1.2, 1.3, 0.9, 4.4, 1.0, 1.1, 0.7, 0.7, 1.3, 1.2, 1.3	0.52, 0.52, 0.52, 0.91, 1.15, 0.38, 44.60, 0.52, 0.71, 0.18, 0.18, 1.15, 0.91, 1.15
3	24	1.2, 1.3, 3.8, 0.7, 0.6, 0.6, 6.4, 0.7, 1.1, 1.1, 1.0, 0.8, 0.5, 0.5, 0.5, 0.2, 0.2, 0.3, 2.0, 2.1, 1.2, 2.4, 1.8, 1.8	0.91, 1.15, 28.73, 0.18, 0.11, 0.11, 137.26, 0.18, 0.71, 0.71, 0.52, 0.27, 0.07, 0.07, 0.07, 0.004, 0.004, 0.01, 4.19, 4.85, 0.91, 7.24, 3.05, 3.05
4	1	2.4	7.24
5	3	0.3, 1.3, 1.5	0.04, 1.15, 1.77
6	5	0.3, 1.4, 0.2, 1.1, 0.2	0.01, 1.44, 0.004, 0.71, 0.004
7	7	0.5, 0.5, 0.5, 0.6, 1.4, 0.7, 1.0	0.07, 0.07, 0.07, 0.11, 1.44, 0.18, 0.52
8	8	1.0, 1.6, 0.7, 1.0, 2.5, 1.0, 0.9, 1.5	0.52, 2.14, 0.18, 0.52, 8.18, 0.52, 0.38, 1.77
9	4	0.8, 1.7, 1.7, 0.6	0.51, 2.57, 2.57, 0.11
10	1	2.0	4.19
11	4	0.5, 1.2, 0.8, 2.2	0.07, 0.91, 0.27, 5.58
12	7	2.5, 3.3, 2.9, 3.0, 0.6, 1.0, 1.3	8.18, 18.82, 12.77, 14.14, 0.11, 0.52, 1.15
13	4	1.7, 1.0, 0.5, 3.7	2.57, 0.52, 0.07, 26.52
14	3	1.3, 1.0, 0.9	1.15, 0.52, 0.38
15	12	0.7, 0.7, 1.2, 1.3, 0.6, 0.7, 0.6, 0.8, 0.9, 0.4, 0.3, 1.0	0.18, 0.18, 0.91, 1.15, 0.11, 0.18, 0.11, 0.27, 0.38, 0.03, 0.01, 0.52
16	10	1.3, 1.6, 1.0, 0.5, 1.0, 0.5, 0.6, 0.9, 1.0, 0.7	1.15, 2.14, 0.52, 0.07, 0.52, 0.07, 0.11, 0.38, 0.52, 0.18
17	3	1.0, 1.0, 0.8	0.52, 0.52, 0.27
18	7	1.6, 1.7, 1.4, 1.0, 1.3, 0.9, 2.1	2.14, 2.57, 1.44, 0.52, 1.15, 0.38, 4.85
19	16	0.5, 0.5, 0.7, 0.7, 0.9, 0.9, 0.4, 0.6, 0.9, 1.0, 1.0, 0.5, 0.4, 0.5, 0.5, 0.7	0.07, 0.07, 0.18, 0.18, 0.38, 0.38, 0.03, 0.11, 0.38, 0.52, 0.52, 0.07, 0.03, 0.07, 0.07, 0.18
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
19	135	1.15 ± 0.07	3.03 ± 1.11
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grösßenklasse (mm)
19	7.1 ± 1.3	100	I (0.2-0.7): 49 36.3% II (0.8-1.0): 36 26.7% III (1.1-1.6): 28 20.7% IV (1.7-3.4): 18 13.0% V (> 3.4): 4 3.0%

abelle 7.7

WEIBCHEN		50 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchs- tier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	3	1.8,2.0,1.3	3.05,4.19,1.15
2	9	0.6,0.9,1.0,1.1,1.4, 0.9,1.0,0.9,0.5	0.11,0.38,0.52,0.71,1.44, 0.38,0.52,0.38,0.07
3	10	2.2,2.1,1.3,1.8,2.8, 2.2,2.0,1.5,0.5,1.8	5.58,4.85,1.15,3.05,11.49, 5.58,4.19,1.77,0.07,3.05
4	3	1.7,2.2,0.6	2.57,5.58,0.11
5	1	0.9	0.38
6	8	1.1,1.0,1.5,2.0,0.9, 2.0,1.6,0.7	0.71,0.52,1.77,4.19,0.38, 4.19,2.14,0.18
7	5	1.0,1.2,0.9,1.2,1.0	0.52,0.91,0.38,0.91,0.52
8	7	1.2,1.0,0.8,0.8,1.6, 1.2,1.2	0.91,0.52,0.27,0.27,2.14, 0.91,0.91
9	4	0.6,0.8,1.2,1.0	0.11,0.27,0.91,0.52
10	5	0.8,1.1,1.4,0.6,2.0	0.27,0.71,1.44,0.11,4.19
11	1	0.9	0.38
12	19	0.6,0.8,4.5,0.8,1.5, 1.3,1.9,2.0,1.4,1.0, 1.2,1.1,0.8,3.0,1.5, 1.7,1.0,0.8,0.5	0.11,0.27,47.71,0.27,1.77, 1.15,3.59,4.19,1.44,0.52, 0.91,0.71,0.27,14.14,1.77, 2.57,0.52,0.27,0.07
13	8	0.8,0.9,1.0,1.0,1.2, 1.1,0.9,0.8	0.27,0.38,0.52,0.52,0.91, 0.71,0.38,0.27
14	4	2.0,1.8,1.1,1.4	4.19,3.05,0.71,1.44
15	5	1.0,1.5,3.0,3.0,2.1	0.52,1.77,14.14,14.14,4.85
16	8	0.9,1.1,0.8,1.0,0.9, 1.1,1.0,1.3	0.38,0.71,0.27,0.52,0.38, 0.71,0.52,1.15
17	6	4.5,0.8,1.0,4.7,1.0, 1.0	47.71,0.27,0.52,54.36,0.52, 0.52
18	10	0.7,1.5,0.8,0.6,2.5, 2.0,2.1,1.3,1.8,2.6	0.18,1.77,0.27,0.11,8.18, 4.19,4.85,1.15,3.05,9.20
19	1	3.0	14.14
total ersuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
9	117	1.38 ± 0.09	3.24 ± 0.76
total ersuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
9	6.2 ± 0.9	100	I (0.2-0.7): 11 9.4% II (0.8-1.0): 41 35.0% III (1.1-1.6): 33 28.2% IV (1.7-3.4): 29 24.8% V (> 3.4): 3 2.6%

Tabelle 7.8

WEIBCHEN		60 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchs- tier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumorstadium in mm ³
1	5	1.7, 1.1, 1.0, 1.8, 2.0	2.57, 0.71, 0.52, 3.05, 4.19
2	6	1.9, 3.5, 4.2, 3.7, 1.2, 2.0	3.59, 22.45, 38.79, 26.52 0.91, 4.19
3	6	1.3, 1.2, 1.5, 1.9, 2.0, 0.3	1.15, 0.91, 1.77, 3.59, 4.19, 0.01
4	3	0.5, 1.7, 1.0	0.07, 2.57
5	10	1.0, 1.6, 1.7, 2.3, 1.9, 1.0, 1.8, 3.1, 1.3, 1.0	0.52, 2.14, 2.57, 6.37, 3.59, 0.52, 3.05, 15.59, 1.15, 0.52
6	4	1.2, 1.8, 2.1, 3.5	0.91, 3.05, 4.85, 22.45
7	15	1.5, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.8, 2.1, 1.2, 1.7, 1.0	1.77, 2.57, 3.05, 3.59, 4.19, 11.49, 4.85, 0.91, 2.57, 0.52,
8	6	1.0, 1.5, 1.8, 2.0, 2.0 0.8, 0.9, 1.0, 1.8, 1.8, 1.3	0.52, 1.77, 3.05, 4.19, 4.19 0.27, 0.38, 0.52, 3.05, 3.05, 1.15
9	12	1.8, 1.3, 1.0, 0.90, 3.0, 1.8, 0.7, 1.7, 1.0, 1.5, 1.0, 0.9	3.05, 1.15, 0.52, 0.38, 14.14, 3.05, 0.18, 2.57, 0.52, 1.77, 0.52, 0.38
10	9	1.4, 2.0, 2.0, 1.0, 0.9, 1.5, 1.4, 0.7, 1.0	1.44, 4.19, 4.19, 0.52, 0.38, 1.77, 1.44, 0.18, 0.52
11	2	1.8, 0.2	3.05, 0.004
12	4	1.8, 1.3, 1.9, 1.4	3.05, 1.15, 3.59, 1.44
13	4	1.4, 1.8, 1.9, 1.4	1.44, 3.05, 3.59, 1.44
14	14	0.8, 1.5, 1.1, 0.8, 1.3, 0.8, 1.0, 1.1, 1.4, 1.0, 1.0, 1.6, 1.6, 1.0	0.27, 1.77, 0.71, 0.27, 1.15, 0.27, 0.52, 0.71, 1.44, 0.52, 0.52, 2.14, 2.14, 0.52
15	2	0.7, 0.3	0.18, 0.01
16	4	1.2, 1.8, 0.7, 1.8	0.91, 3.05, 0.18, 3.05
17	12	8.0, 1.2, 0.8, 1.3, 1.8, 1.2, 1.2, 1.9, 1.0, 0.5, 1.0, 0.6	268.08, 0.91, 0.27, 1.15, 3.05, 0.91, 0.91, 3.59, 0.52, 0.07, 0.52, 0.11
18	10	1.0, 0.7, 1.0, 1.1, 1.0, 1.6, 0.5, 0.8, 1.3, 1.2	0.52, 0.18, 0.52, 0.71, 0.52, 2.14, 0.07, 0.27, 1.15, 0.91
19	2	2.0, 0.5	4.19, 0.07
20	11	2.5, 4.2, 2.2, 3.0, 2.5, 2.2, 3.5, 3.7, 3.0, 2.5, 1.5	8.18, 38.79, 5.58, 14.14, 8.18, 5.58, 22.45, 26.52, 14.14, 8.18, 1.77
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumorstadium in mm ³
20	141	1.54 ± 0.06	5.55 ± 1.98
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
20	7.0 ± 0.9	100	I (0.2-0.7): 12 8.5% II (0.8-1.0): 34 26.9% III (1.1-1.6): 39 27.7% IV (1.7-3.4): 48 34.0% V (> 3.4): 11 7.8%

Tabelle 7.9

MAENNCHEN		5 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchs- tier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumervolumen in mm ³
1-5	0	-	-
6	1	0.4	0.03
7	2	0.6, 0.4	0.11, 0.03
8-10	0	-	-
11	1	0.5	0.07
12-14	0	-	-
15	1	0.3	0.01
16-20	0	-	-
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumervolumen in mm ³
20	5	0.44 ± 0.05	0.05 ± 0.02
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
4	0.25 ± 0.1	20	I (0.2-0.7): 5 100% II (0.8-1.0): 0% III (1.1-1.6): 0% IV (1.7-3.4): 0% V (> 3.4): 0%

Tabelle 7.10

MAENNCHEN		10 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	3	0.6,0.5,0.7	0.11,0.07,0.18
2	2	0.7,0.6	0.18,0.11
3	1	0.7	0.18
4	1	0.6	0.11
5-6	0	-	-
7	2	0.4,0.3	0.03,0.01
8-9	0	-	-
10	1	0.5	0.07
11	5	0.8,0.7,0.3,0.6,0.6	0.27,0.18,0.01,0.11,0.11
12-17	0	-	-
18	2	0.6,0.7	0.11,0.18
19	1	0.7	0.18
20	2	0.5,0.4	0.07,0.03
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
20	20	0.58 ± 0.03	0.16 ± 0.02
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Größenklasse (mm)
10	1.0 ± 0.3	50	I (0.2-0.7): 19 95.0% II (0.8-1.0): 1 5.0% III (1.1-1.6): 0 % IV (1.7-3.4): 0 % V (> 3.4): 0 %

Tabelle 7.11

MAENNCHEN		15 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	1	0.7	0.18
2	4	1.0, 0.7, 0.6, 1.0	0.52, 0.18, 0.11, 0.52
3-4	0	-	-
5	7	0.5, 0.5, 1.0, 0.8, 1.1, 0.4, 0.4	0.07, 0.07, 0.52, 0.27, 0.71, 0.03, 0.03
6	1	0.3	0.01
7	6	0.4, 0.6, 0.5, 0.4, 0.8, 0.7	0.03, 0.11, 0.07, 0.03, 0.27, 0.18
8	4	0.8, 0.8, 0.8, 0.2	0.27, 0.27, 0.27, 0.004
9	1	0.5	0.07
10	1	0.9	0.38
11	1	0.3	0.01
12	1	0.3	0.01
13	1	1.0	0.52
14	3	0.5, 0.6, 0.4	0.07, 0.11, 0.03
15	1	0.5	0.07
16	0	-	-
17	1	0.3	0.01
18	11	0.5, 1.3, 0.6, 0.5, 0.8, 0.8, 0.5, 0.5, 0.9, 0.9, 0.9	0.07, 1.15, 0.11, 0.07, 0.27, 0.27, 0.07, 0.07, 0.38, 0.38, 0.38
19-20	0	-	-
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
20	44	0.65 ± 0.04	0.19 ± 0.03
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse
15	2.2 ± 0.6	75	I (0.2-0.7): 27 61.3% II (0.8-1.0): 15 34.1% III (1.1-1.6): 2 4.6% IV (1.7-3.4): 0 % V (> 3.4): 0 %

Tabelle 7.12

MAENNCHEN		20 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchs- tier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	1	0.5	0.07
2	21	1.2, 0.8, 0.6, 1.2, 1.0, 0.6, 0.5, 0.6, 1.0, 0.9, 0.8, 0.8, 0.7, 0.7, 0.8, 0.7, 0.6, 0.6, 1.2, 0.9, 0.6	0.91, 0.27, 0.11, 0.91, 0.52, 0.11, 0.07, 0.11, 0.52 0.38, 0.27, 0.27, 0.18, 0.18, 0.27, 0.18, 0.11, 0.11, 0.91, 0.38, 0.11, 0.27
3	1	0.8	0.27
4	6	0.7, 0.5, 0.3, 0.5, 1.4, 0.2	0.18, 0.07, 0.01, 0.07, 1.44, 0.00
5	1	2.3	6.37
6	0	-	-
7	1	0.7	0.18
8	4	0.3, 0.5, 0.3, 0.4	0.01, 0.07, 0.03, 0.03
9	5	1.0, 0.4, 1.2, 0.4, 1.2	0.52, 0.03, 0.91, 0.03, 0.91
10	0	-	-
11	3	0.5, 0.6, 0.5	0.07, 0.11, 0.07
12	2	0.3	0.6
13	0	-	-
14	1	0.5	0.07
15	11	0.5, 0.6, 0.9, 0.5, 0.6, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0, 0.4	0.07, 0.11, 0.38, 0.07, 0.11, 0.01, 0.03, 0.07, 0.18, 0.52, 0.03
16	0	-	-
17	16	0.08, 0.08, 0.08, 1.0, 1.1, 0.4, 0.8, 0.9, 1.0, 0.7, 0.8, 1.0, 0.6, 0.6, 0.8, 0.8	0.27, 0.27, 0.27, 0.52, 0.71, 0.03, 0.27, 0.38, 0.52, 0.18, 0.27, 0.52, 0.11, 0.11, 0.27, 0.27
18	4	0.5, 0.4, 0.8, 0.7	0.07, 0.03, 0.27, 0.18
19	13	0.4, 0.7, 0.7, 1.0, 0.5, 80.9, 1.1, 1.1, 1.2, 0.9, 0.7, 0.9, 0.5,	0.03, 0.18, 0.18, 0.52, 0.07, 0.38, 0.71, 0.71, 0.91, 0.38, 0.18, 0.07, 0.38
20	3	0.6, 0.5, 0.8	0.11, 0.07, 0.27
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
20	93	0.73 ± 0.03	0.33 ± 0.07
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
16	4.65 ± 1.3	80	I (0.2-0.7): 53 57.0% II (0.8-1.0): 29 31.2% III (1.1-1.6): 10 10.7% IV (1.7-3.4): 1 1.1% V (> 3.4): 0 %

Tabelle 7.13

MAENNCHEN		30 WOCHEN NACH URETHAN	
Versuchstier Nr.	Anzahl Tumore	Einzelwerte Durchmesser	Errechnetes Tumolvolumen in mm ³
1	10	0.6,0.5,0.5,0.2,0.5,1.0, 1.0,1.0,0.4,0.8	0.11,0.07,0.07,0.004,0.07, 0.52,0.52,0.52,0.03,0.27
2	3	1.2,0.5,0.5,	0.91,0.07,0.07
3	12	0.9,0.9,0.8,0.4,0.7, 0.6,0.6,0.6,0.6,0.7, 0.7,0.7	0.38,0.38,0.27,0.03, 0.18,0.11,0.11,0.11,0.11, 0.18,0.18,0.18
4	1	0.5	0.07
5	3	0.3,0.6,1.2	0.01,0.11,0.91
6	3	0.6,0.3,0.9	0.11,0.01,0.38
7	2	0.3,0.3	0.01,0.01
8	0	-	-
9	16	1.0,0.9,1.2,1.0,1.0, 0.8,0.9,1.5,1.0,1.4, 1.5,1.2,1.5,0.8,0.9,0.6	0.52,0.38,0.91,0.52,0.52, 0.27,0.38,1.77,0.52,1.44, 1.77,0.91,1.77,0.27 0.38,0.11
10	4	1.2,0.6,0.4,0.8	0.91,0.11,0.03,0.27
11	0	-	-
12	2	1.0,0.7	0.52,0.18
13	5	1.2,1.3,1.2,1.2,0.9	0.91,0.16,0.91,0.91,0.38
14	13	0.5,0.7,0.9,0.9,1.4, 0.2,0.5,0.6,0.7,0.2, 0.3,0.3,1.1	0.07,0.18,0.38,0.38,1.44, 0.004,0.07,0.11,0.18, 0.004,0.01,0.01,0.71
15	0	-	-
16	7	0.5,0.9,1.0,0.7,1.0, 1.1,0.9	0.07,0.38,0.52,0.18,0.52, 0.71,0.38
17	1	0.3	0.01
18	2	1.2,1.3	0.91,1.18
Total Versuchstiere	Total Tumore	mittl. Tumordurchmesser	mittl. Tumolvolumen in mm ³
18	84	0.84 ± 0.08	0.41 ± 0.05
Total Versuchstiere mit Tumoren	mittl. Anzahl Tumore pro Versuchstier	% Tiere mit Tumoren	Anzahl Tumore pro Grössenklasse (mm)
15	4.7 ± 0.5	83.3	I (0.2-0.7): 40 47.6% II (0.8-1.0): 26 33.3% III (1.1-1.6): 18 21.4% IV (1.7-3.4): 0 0% V (> 3.4): 0 0%

Tabelle 8

Anzahl Tumoren nach Urethanbehandlung und ihre zahlenmässige Verteilung auf die einzelnen Lungenlappen. Die einzelnen Lappen (lobi pulmonis) sind nach abnehmender Grösse von links nach rechts in der Tabelle angeordnet. (HL=Herzlobus; L=linker Lobus; ML=mittlerer Lobus; OL=oberer Lobus; UL=unterer Lobus).

	Serie	Nr.	Anzahl Tiere	Wochen nach Inj.	Alter (Wochen)	linker		rechter			Total	mittl. Anzahl	
						Lungenflügel	L	UL	ML	OL		Tumoren	Tumoren pro Lunge
<u>Weibchen</u>		1	20	5	14		5	5	3	1	2	16	0.8 (+0.3)
		2	19	10	19		8	6	10	2	6	32	1.7 (+0.5)
		3	19	15	24		18	6	12	14	4	64	3.4 (+0.8)
		4	20	20	29		30	17	16	9	9	81	4.1 (+0.7)
		5	20	30	39		31	22	24	16	8	101	5.1 (+0.4)
		6	19	40	49		46	25	41	14	9	135	7.1 (+1.3)
		7	19	50	59		38	22	20	21	16	117	6.2 (+0.9)
		8	20	60	69		52	34	24	21	10	141	7.0 (+0.9)
Total			156				228	147	150	98	64	687	
<u>Männchen</u>		1	20	5	14		3	1	1	0	0	5	0.3 (+0.1)
		2	20	10	19		5	7	2	1	5	20	1.0 (+0.3)
		3	20	15	24		11	10	10	10	3	44	2.2 (+0.6)
		4	20	20	29		28	19	17	22	7	93	4.7 (+1.3)
		5	18	30	39		27	21	20	12	4	84	4.7 (+0.5)
Total			98				74	58	50	55	19	246	

Referenz- untersuchung	Tumordurchmesser (Mikrometer)	Errechnetes Volumen (mm ³)	Zellzahl	Erwartete Anzahl Teilungen in 10 Wochen (1)
SHIMKIN und POLISSAR (1955)	70	0.0002	400	28.8

Zeitpunkt nach Urethan (2)	Tumordurchmesser (Mikrometer) (3)	Errechnetes Volumen (mm ³)	Errechnete Zellzahl	Vermehrungs- faktor	Theoretische Anzahl Zellteilungen (4)	Anteil teilungs- fähiger Zellen (5)
10 Wochen	473	0.0554	110'800	3.2978	1.65	5.7%
20 Wochen	704	0.1827	365'400	2.3426	1.17	4.1%
30 Wochen	935	0.4280	856'000	1.9393	0.9	3.1%
40 Wochen	1'166	0.8300	1'660'000	1.7234	0.7	2.4%
50 Wochen	1'398	1.4306	2'861'200	1.5821	0.6	2.1%
60 Wochen	1'629	2.2634	4'526'800			

(1) 28.8 Tage = 70 Tage / 2.43 Tage Generationszeit; (2) eigene Untersuchungen; (3) Werte der Regressionsgeraden für die mittleren Tumordurchmesser der Weibchen (s. Abbildung 7); (4) Annahme: alle Zellen haben die gleiche Teilungsfähigkeit; (5) Verhältnis der theoretischen Anzahl Zellteilungen zur Anzahl erwarteter Teilungen.

Tabelle 9: Wachstumskinetik Urethan-induzierter Lungentumore. Details im Text Kapitel 2.3.1

Tabelle 10: Klassifikation Urethan-induzierter Tumore nach histopathologischen Merkmalen (Klassen A-E) und Zuordnung entsprechender Grössenklassen (1-5)

Tumor- typ	Charakterisierung	Anzahl untersuchte Tumore	Grössen- verteilung (in mm)	Mittlere Durchmesser (in mm)	Grössenklasse (Bereich auf Grund der Häufigkeitsverteilung)
A	<u>Trabekuläres Adenom</u> Trabekuläre Anordnung dicht gepackter, einheitlicher kuboideal Zellen, die die Alveolarräume auffüllen. Benigner Charakter, aber fehlende Inkapsulierung.	28	0.2 - 0.7	0.5(±0.02)	<u>1</u> (0.2 - 0.7)
B	<u>Pseudopapilläres Adenom</u> Auflockerung der Struktur durch Grössenausdehnung und beginnende Papillarisierung. Heteromorphes Erscheinungsbild, bedingt durch Zellumformung zu mehrheitlich zylindrischen Zellen.	28	0.7 - 1.1	0.9(±0.02)	<u>2</u> (0.8 - 1.0)
C	<u>Papilläres Zylinderzell-Adenom</u> Papillärer Aufbau aus einheitlichen zylindrischen Zellen. Kompression der Alveolen in der Randzone des Tumors.	18	1.0 - 1.8	1.3(±0.05)	<u>3</u> (1.1 - 1.6)
D	<u>Karzinoidtyp-Tumor</u> Adenomatöse, eng papilläre Struktur. Tendenz zur Kernpolymorphie und Nekrose. Intermediäres bis malignes Erscheinungsbild.	9	1.7 - 3.4	2.6(±0.2)	<u>4</u> (1.7 - 3.4)
E	<u>Alveolarzell-Karzinom</u> (Lungenadenomatose) Eigentliches papilläres Karzinom mit destruktivem Wachstum und partiellem oder totalem Befall des Lobus. Eindeutige Malignitätsmerkmale wie hyperchromatische, polymorphe Kerne, Nekrosetendenz	4	3.4 - 11.3	6.2(±1.8)	<u>5</u> (>3.4)

A		Wochen nach Urethan					
		20	30	40	50	60	
Tumorklasse	A	14 (93.3%)	7 (53.9%)	7 (38.9%)	0	0	28
	B	1 (6.7%)	5 (38.4%)	6 (33.3%)	9 (50.0%)	7 (30.4%)	28
	C	0	1 (7.7%)	3 (16.7%)	6 (33.3%)	8 (34.8%)	18
	D	0	0	2 (11.1%)	2 (11.1%)	5 (21.8%)	9
	E	0	0	0	1 (5.6%)	3 (13.0%)	4
Total		15	13	18	18	23	87

B		Wochen nach Urethan					Total
		20	30	40	50	60	
Größenklasse	1	59 (72.8%)	33 (32.7%)	49 (36.3%)	11 (9.4%)	12 (8.5%)	164
	2	14 (17.3%)	20 (19.8%)	36 (26.7%)	41 (35.0%)	34 (24.1%)	145
	3	7 (8.7%)	19 (18.8%)	28 (20.7%)	33 (28.8%)	39 (27.7%)	126
	4	1 (1.2%)	28 (27.7%)	18 (13.3%)	29 (24.8%)	48 (34.0%)	124
	5	0	1 (1.0%)	4 (3.0%)	3 (2.6%)	8 (5.7%)	16
Total		81	101	135	117	141	575

Tabelle 11: Aenderung der Klassen-Anteile in Abhängigkeit von der Zeit, die zwischen der Urethan-Behandlung und der Auswertung liegt,

und zwar:

- A) für die Tumorklassen A bis E, auf Grund einer für die histopathologische Beurteilung zufällig getroffenen Auswahl
 B) für die entsprechenden Größenklassen 1-5, unter Berücksichtigung aller im Experiment festgestellten Lungentumore.

(Weitere Details im Text, Kapitel 2.3.2)

Weibliche Versuchstiere									Männliche Versuchstiere								
Urethan allein	Urethan + Vitamin C	Urethan + Koffein	Urethan + Chloroquin	Urethan + 5 rad	Urethan + 100 rad	Urethan + 500 rad	Total Tumore	Übereinstimmung Typ / Grössenkl.	Urethan allein	Urethan + Vitamin C	Urethan + Koffein	Urethan + Chloroquin	Urethan + 5 rad	Urethan + 100 rad	Urethan + 500 rad	Total Tumore	Übereinstimmung Typ / Grössenkl.
Histol. Typ A	8	9	11	14	14	10	9	75	8	10	11	15	8	10	9	71	100%
Grössenklasse 1	8	9	11	14	14	10	9	75	8	10	11	15	8	10	9	71	
grösser	-	-	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	
kleiner	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Histol. Typ B	8	6	8	8	5	6	6	47	4	6	5	4	5	6	4	34	94%
Grössenklasse 2	6	4	5	8	4	6	6	39	2	6	5	4	5	6	4	32	
grösser	-	-	-	-	-	-	-	83%	-	-	-	-	-	-	-	-	
kleiner	2	2	3	-	1	-	-	8	2	-	-	-	-	-	-	2	
Histol. Typ C	1	3	4	3	2	5	1	19	1	1	3	-	3	2	3	13	92%
Grössenklasse 3	1	3	4	3	2	4	1	18	-	1	3	-	3	2	3	12	
grösser	-	-	-	-	-	-	-	95%	-	-	-	-	-	-	-	-	
kleiner	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1	
Total Tumore	17	18	23	25	21	21	16		13	17	19	19	16	18	16		
Übereinstimmung	15	16	20	25	20	20	16		10	17	19	19	16	18	16		
Typ/Grössenkl.	88%	89%	87%	100%	95%	95%	100%		77%	100%	100%	100%	100%	100%	100%		

Tabelle 12: Histologische Beurteilung einer zufällig getroffenen Auswahl von Lungentumoren 20 Wochen nach dem mit Urethan kombinierten Bestrahlungseffekt. Die Tumoren sind in drei Grössenklassen eingeteilt worden. Die Tumoren sind in drei Grössenklassen eingeteilt worden. Die Tumoren sind in drei Grössenklassen eingeteilt worden.

	P R Ä V A L E N Z					F R E Q U E N Z					G R O E S S E				
	Anzahl Versuchstiere	Anzahl Tumorträger	In % Tumorträger	Signifikanz (χ^2) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung	Mittl. Anzahl Tumore/Lunge	In % der Kontrolle	Signifikanz (t) (% Irrt.wahrsch.)	Signifikanz (U) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung	Anzahl Lungentumore	Mittlerer Durchmesser	Signifikanz (t) (% Irrt.wahrsch.)	Signifikanz (U) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung
Urethan (Kontrolle)	19	15	79			5.2 (± 1.5)					99	0.71 (± 0.03)			
Urethan + Vitamin C	20	14	70	n.s.		1.8 (± 0.4)	35	5	n.s.	-	35	0.72 (± 0.05)	n.s.	n.s.	
Urethan + Koffein	19	11	58	n.s.		2.2 (± 0.8)	42	n.s.	n.s.		42	0.60 (± 0.06)	n.s.	n.s.	
Urethan + Chloroquin	20	15	75	n.s.		2.1 (± 0.4)	40	5	n.s.	-	41	0.64 (± 0.04)	n.s.	n.s.	
Urethan + 5 cGy X	20	16	80	n.s.		2.5 (± 0.4)	48	n.s.	n.s.		49	0.76 (± 0.05)	n.s.	n.s.	
Urethan + 100 cGy X	20	17	85	n.s.		2.9 (± 0.5)	56	n.s.	n.s.		58	0.75 (± 0.06)	n.s.	n.s.	
Urethan + 500 cGy X	20	12	60	n.s.		1.2 (± 0.3)	23	2	5	-	23	0.98 (± 0.09)	1	1	+
Unbehandelt	20	1	5	1		0.05	1	0.1	5		1				

Tabelle 13: Modifikation der Urethan-Wirkung (Teil 1)

a) Adult behandelte Männchen

P R A E V A L E N Z				F R E Q U E N Z					G R O E S S E					
Anzahl	Versuchstiere	Anzahl	Tumorträger	In %	Signifikanz (χ^2)	(% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung	Mittl. Anzahl Tumore/Lunge	In % der Kontrolle	Signifikanz (t)	(% Irrt.wahrsch.)	Signifikanz (U)	(% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung
Urethan (Kontrolle)	19	16	84					4.8 (+1.1)	48	5				
Urethan + Vitamin C	20	14	70		n.s.			2.3 (+0.6)	104	n.s.				-
Urethan + Koffein	20	18	90		n.s.			5.0 (+0.8)	69	n.s.				
Urethan + Chloroquin	20	17	85		n.s.			3.3 (+0.6)	75	n.s.				
Urethan + 5 cGy X	20	14	70		n.s.			3.6 (+0.8)	46	5				
Urethan + 100 cGy X	18	11	61		n.s.			2.2 (+0.8)	38	2				
Urethan + 500 cGy X	20	15	75		n.s.			1.8 (+0.4)	1	0.1				
Unbehandelt	20	1	5		1			0.05	1	5				

Tabelle 13: Modifikation der Urethan-Wirkung
(Teil 2) b) Adult behandelte Weibchen

	P R A E V A L E N Z					F R E Q U E N Z					G R O E S S E				
	Anzahl Versuchstiere	Anzahl Tumorträger	Tumorträger in %	Signifikanz (χ^2) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung	Mittl. Anzahl Tumore/Lunge	In % der Kontrolle	Signifikanz (t) (% Irrt.wahrsch.)	Signifikanz (U) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung	Anzahl Lungentumore	Mittlerer Durch-messer	Signifikanz (t) (% Irrt.wahrsch.)	Signifikanz (U) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung
Urethan (Kontrolle)	54	33	61			1.13 (+0.19)					61	0.46 (+0.06)			
Urethan + Vitamin C	34	13	38	5	-	0.53 (+0.13)	47	5	3	-	18	0.94 (+0.15)	0.1	0.1	+
Urethan + Koffein	33	17	52	n.s.		0.70 (+0.17)	62	n.s.	n.s.		23	1.03 (+0.16)	0.1	0.1	+
Urethan + Chloroquin	27	8	30	1	-	0.41 (+0.13)	36	2	0.8	-	11	1.0 (+0.18)	1	2	+
Urethan + 5 cGy X	30	9	30	1	-	0.40 (+0.13)	35	2	0.4	-	12	0.64 (+0.08)	n.s.	3	+
Urethan + 20 cGy X	29	8	28	1	-	0.48 (+0.18)	42	5	0.6	-	14	1.4 (+0.2)	0.1	0.1	+
Urethan + 100 cGy X	26	14	54	n.s.		0.92 (+0.29)	81	n.s.	n.s.		24	0.31 (+0.03)	n.s.	n.s.	
Urethan + NaCl	19	13	68	n.s.		1.37 (+0.32)	121	n.s.	n.s.		4	0.48 (+0.14)	n.s.	n.s.	
Unbehandelt	25	3	12	1		0.16 (+0.08)	14	0.1	0.1						

Tabelle 13: Modifikation der Urethan-Wirkung (Teil 3)
c) in utero behandelte Männchen

	P R Ä P A R A T E N					F R E Q U E N Z					G R O E S S E				
	Anzahl Versuchstiere	Anzahl Tumorträger	Tumorträger in %	Signifikanz (χ^2) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung	Mittl. Anzahl Tumore/Lunge	in % der Kontrolle	Signifikanz (t) (% Irrt.wahrsch.)	Signifikanz (U) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung	Anzahl Lungentumore	Mittlerer Durch- messer	Signifikanz (t) (% Irrt.wahrsch.)	Signifikanz (U) (% Irrt.wahrsch.)	Richtung der Mod.wirkung
Urethan (Kontrolle)	49	22	45			0.59 (+0.11)					29	1.26 (+0.1)			
Urethan + Vitamin C	26	8	31	n.s.		0.39 (+0.13)	66	n.s.	n.s.		10	1.13 (+0.18)	n.s.	n.s.	
Urethan + Koffein	29	13	45	n.s.		0.55 (+0.13)	93	n.s.	n.s.		16	1.17 (+0.13)	n.s.	n.s.	
Urethan + Chloroquin	27	11	41	n.s.		0.56 (+0.15)	95	n.s.	n.s.		15	1.34 (+0.15)	n.s.	n.s.	
Urethan + 5 cGy X	29	10	34	n.s.		0.45 (+0.13)	76	n.s.	n.s.		13	1.09 (+0.15)	n.s.	n.s.	
Urethan + 20 cGy X	27	13	48	n.s.		0.70 (+0.17)	119	n.s.	n.s.		19	1.09 (+0.14)	n.s.	n.s.	
Urethan + 100 cGy X	25	11	44	n.s.		0.48 (+0.12)	81	n.s.	n.s.		12	1.08 (+0.11)	n.s.	n.s.	
Urethan + NaCl	32	8	25	n.s.		0.34 (+0.12)	58	n.s.	n.s.		11	1.31 (+0.2)	n.s.	n.s.	
Unbehandelt	28	1	4	1		0.04	7	0.1	0.1		1				

Tabelle 13: Modifikation der Urethan-Wirkung (Teil 4) d) in utero behandelte Weibchen

	P R A E V A L E N Z					F R E Q U E N Z					G R O E S S E				
	Anzahl Versuchstiere	Anzahl Tumorträger	Tumorträger in %	Signifikanz (χ^2)	Richtung der Mod. Wirkung	Mittl. Anzahl Tumore/Lunge	In % der Kontrolle	Signifikanz (t)	Signifikanz (U)	Richtung der Mod. Wirkung	Anzahl Lungentumore	Mittlerer Durchmesser	Signifikanz (t)	Signifikanz (U)	Richtung der Mod. Wirkung
Urethan (Kontrolle)	103	55	33			0.87 (+0.11)					90	0.72 (+0.06)			
Urethan + Vitamin C	60	21	35	5	-	0.47 (+0.09)	54	1	2	-	28	1.01 (+0.12)	5	0.8	+
Urethan + Koffein	62	30	48	n.s.		0.63 (+0.11)	72	n.s.	n.s.		39	1.09 (+0.11)	1	0.2	+
Urethan + Chloroquin	54	19	35	5	-	0.48 (+0.1)	55	2	3	-	26	1.20 (+0.61)	0.1	0	+
Urethan + 5 cGy X	59	19	32	1	-	0.42 (+0.09)	48	0.1	0.6	-	25	0.88 (+0.1)	n.s.	n.s.	
Urethan + 20 cGy X	56	21	38	5	-	0.59 (+0.12)	68	n.s.	n.s.		33	1.22 (+0.12)	0.1	0	+
Urethan + 100 cGy X	51	25	49	n.s.		0.71 (+0.16)	82	n.s.	n.s.		36	0.57 (+0.08)	n.s.	n.s.	
Urethan + NaCl	51	21	41	n.s.		0.73 (+0.15)	84	n.s.	n.s.		37	0.71 (+0.12)	n.s.	n.s.	
Unbehandelt	53	4	8	0.1		0.09	10	0.1	0.1		5	0.62 (+0.18)	n.s.	n.s.	

Tabelle 13: Modifikation der Urethan-Wirkung

(Teil 5) e) Geschlechtsunabhängiger Zusammenhang aller in utero behandelten Tiere

Tabelle 14: TERATOGENITÄT VON URETHAN UND MIT URETHAN KOMBINIERTEN BEHANDLUNGSWEISEN (MODIFIKATOREN)
(Teil 1: Modifikatoren allein)

	UNBEHANDELT (Referenz)	NATRIUM- CHLORID	VITAMIN C	KOFFEIN	CHLOROQUIN	RONTGEN- STRAHLEN 5 cGy	RONTGEN- STRAHLEN 20 cGy
Implantate (10 Mütter)	87	113	125	126	119	110	123
Resorptionen	2	4	3	8	5	5	4
Fetaltod Tage 14-18	0	0	2	1	0	0	2
Fetalgewicht Tag 18 (mg)	1486 (+12)	1360 (+14)	1307 (+14)	1299 (+13)	1364 (+16)	1437 (+11)	1398 (+14)
Signifikanz Unterschied zu Referenz (t-Test; p)	---	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	<0.001
Überlebende Feten	85	109	120	117	114	105	117
Polydactylie	5 (5.9%)	7 (6.4%)	5 (4.2%)	10 (8.6%)	5 (4.4%)	7 (6.7%)	11 (11.7%)
Wolfsrachen	0	0	1 (0.8%)	0	3 (2.6%)	0	0
Microphthalmie	0	0	1 (0.8%)	2 (1.7%)	0	1 (1.0%)	1 (0.9%)
Exencephalie	0	0	0	2 (1.7%)	0	0	0
Nierenhypoplasie	0	0	1 (0.8%)	2 (1.7%)	0	0	0
Total geschädigte Feten	5 (5.9%)	7 (6.4%)	8 (6.7%)	16 (13.7%)	8 (7.0%)	8 (7.6%)	12 (10.3%)
Signifikanz Unterschied zu Referenz (U-Test; p)	---	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

Tabelle 14: TERATOGENITÄT VON URETHAN UND MIT URETHAN KOMBINIERTEN BEHANDLUNGSWEISEN (MODIFIKATOREN)
(Teil 2: Urethan kombiniert mit den Modifikatoren)

	URETHAN (Referenz)	URETHAN + NATRIUM- CHLORID	URETHAN + VITAMIN C	URETHAN + KOFFEIN	URETHAN + CHLOROQUIN	URETHAN + RÖNTGEN- STRAHLEN 5 cGy	URETHAN + RÖNTGEN- STRAHLEN 20 cGy	KEINE BEHANDLUNG
Implantate (10 Mütter)	106	122	119	133	126	112	111	87
Resorptionen	11	8	2	7	5	3	6	2
Fetal Tod Tage 14-18	1	2	0	1	1	1	0	0
Fetalgewicht Tag 18 (mg)	1175 (+12)	1360 (+16)	1249 (+12)	1209 (+14)	1229 (+12)	1378 (+11)	1373 (+11)	1486 (+12)
Signifikanz Unterschied zu Referenz (t-Test; p)	---	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Überlebende Feten	94	112	117	125	120	108	105	85
Polydactylie	11 (11.7%)	10 (8.9%)	9 (7.7%)	9 (7.2%)	7 (5.8%)	5 (4.6%)	6 (5.7%)	5 (5.9%)
Wolfsrachen	2 (2.1%)	4 (3.6%)	0	4 (3.2%)	0	0	0	0
Microphthalmie	3 (3.2%)	3 (2.7%)	1 (0.9%)	3 (2.4%)	0	0	0	0
Exencephalie	0	0	0	0	0	0	0	0
Nierenhypoplasie	2 (2.1%)	0	0	1 (0.8%)	0	0	0	0
Total geschädigte Feten	18 (19.2%)	17 (15.2%)	10 (8.6%)	17 (13.6%)	7 (5.8%)	5 (4.6%)	6 (5.7%)	5 (5.9%)
Signifikanz Unterschied zu Referenz (U-Test; p)	---	N.S.	<0.05	N.S.	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

Tabelle 15: Autoradiographie des Lungengewebes zu unterschiedlichen Zeiten nach Urethangabe.
Einbau von ^3H -Thymidin in die Lungenepithelien bei einer Inkorporationszeit von
30 Minuten

TAGE NACH URETHANGABE	ANZAHL MARKIERTE ZELLEN AUF 1000			
	Bronchialepithel		Pneumozyten-1	
	Mittelwert (Einzelwerte)	Mittelwert (Einzelwerte)	Mittelwert (Einzelwerte)	Mittelwert (Einzelwerte)
0	4 (3 , 5)	3 (2 , 4)		5 (3 , 7)
1	4 (3 , 5)	3 (3 , 3)		3 (2 , 4)
4	3 (2 , 4)	5 (4 , 6)		12 (10,14)
8	3 (2 , 4)	14 (12,16)		45 (43,47)
11	4 (3 , 5)	6 (4 , 8)		12 (10,14)
18	3 (2 , 4)	4 (3 , 5)		8 (7 , 9)
21	2 (1 , 3)	5 (4 , 6)		4 (3 , 5)

Tabelle 16 (Teil 1)

Autoradiographie des Lungengewebes zu unterschiedlichen Zeiten nach Urethan und mit Urethan kombinierten Behandlungsweisen. Inkorporation von ^3H -Thymidin in Pneumozyten nach 30 Minuten.

a) 1. Tag nach Behandlung

	Behandlungsweise	Pneumozyten-1		ausgezählt	Pneumozyten-2	
		markiert	markierte/1000		markiert	markierte/1000
MÄNNCHEN	Kontrolle	4	3.1	860	4	4.7
	Urethan (U)	3	2.3	940	3	3.2
	U + 5R	3	2.1	965	3	3.1
	U + 100R	2	1.2	850	1	1.2
	U + 500R	2	1.2	1105	1	0.9
	U + Koffein	2	1.5	875	3	3.4
	U + Vitamin C	3	2.0	1030	4	3.9
	U + Chloroquin	2	1.1	1100	2	1.8
	Kontrolle	6	3.0	1601	7	4.4
	Urethan (U)	5	3.0	1373	4	2.9
WEIBCHEN	U + 5R	3	1.8	816	5	6.1
	U + 100R	2	1.3	726	2	2.8
	U + 500R	2	1.2	940	2	2.1
	U + Koffein	3	2.1	805	5	6.2
	U + Vitamin C	3	1.8	895	4	4.5
	U + Chloroquin	3	2.6	685	4	5.8
	Kontrolle	6	3.0	1601	7	4.4
	Urethan (U)	5	3.0	1373	4	2.9

Tabelle 16 (Teil 2)

Autoradiographie des Lungengewebes zu unterschiedlichen Zeiten nach Urethan und mit Urethan kombinierten Behandlungsweisen. Inkorporation von ^3H -Thymidin in Pneumozyten nach 30 Minuten.

b) 4 Tage nach Behandlung

	Behandlungsweise	Pneumozyten-1		Pneumozyten-2	
		ausgezählt	markierte/1000	ausgezählt	markierte/1000
MÄNNCHEN	Kontrolle	1335	3.7	870	6.9
	Urethan (U)	1200	5.8	980	10.2
	U + 5R	2090	1.9	1010	3.0
	U + 100R	1570	1.9	965	2.1
	U + 500R	1245	1.6	775	2.6
	U + Koffein	1450	4.1	705	7.1
	U + Vitamin C	1730	1.7	963	3.1
	U + Chloroquin	1665	1.8	2530	1.2
WEIBCHEN	Kontrolle	2251	2.7	923	5.4
	Urethan (U)	1561	5.1	813	11.1
	U + 5R	1233	13.8	1100	15.5
	U + 100R	2176	4.6	970	13.4
	U + 500R	2075	1.0	960	2.1
	U + Koffein	2196	2.7	1118	11.6
	U + Vitamin C	1391	6.5	1080	8.3
	U + Chloroquin	1245	8.0	1258	8.7

Tabelle 16 (Teil 3)

Autoradiographie des Lungengewebes zu unterschiedlichen Zeiten nach Urethan und mit Urethan kombinierten Behandlungsweisen. Inkorporation von ^3H -Thymidin in Pneumozyten nach 30 Minuten.

c) 8 Tage nach Behandlung

	Behandlungsweise	Pneumozyten-1			Pneumozyten-2		
		ausgezählt	markiert	markierte/1000	ausgezählt	markiert	markiert/1000
MÄNNCHEN	Kontrolle	780	1	1.3	675	1	1.5
	Urethan (U)	1505	25	16.6	1196	55	46.0
	U + 5R	1060	17	16.0	985	29	29.4
	U + 100R	1095	15	13.7	810	16	19.8
	U + 500R	1070	34	31.8	875	58	66.3
	U + Koffein	2301	19	8.3	855	25	29.2
	U + Vitamin C	1365	9	6.6	925	16	17.3
	U + Chloroquin	1220	11	9.0	1035	28	27.1
WEIBCHEN	Kontrolle	2400	9	3.8	1760	7	4.0
	Urethan (U)	2035	28	13.8	1265	57	45.1
	U + 5R	2025	13	6.4	980	18	18.4
	U + 100R	2650	14	5.3	665	19	28.6
	U + 500R	1595	37	23.2	685	61	89.1
	U + Koffein	1815	33	18.2	1175	51	43.4
	U + Vitamin C	2160	23	10.6	1270	39	30.7
	U + Chloroquin	1695	14	8.3	930	29	31.2

Tabelle 16 (Teil 4)

Autoradiographie des Lungengewebes zu unterschiedlichen Zeiten nach Urethan und mit Urethan kombinierten Behandlungsweisen. Inkorporation von ^3H -Thymidin in Pneumozyten nach 30 Minuten.

d) 18 Tage nach Behandlung

	Behandlungsweise	Pneumozyten-1			Pneumozyten-2		
		ausgezählt	markiert	markierte/1000	ausgezählt	markiert	markiert/1000
MÄNNCHEN	Kontrolle	1545	6	3.9	1100	7	6.4
	Urethan (U)	1145	6	5.2	680	7	10.3
	U + 5R	1265	9	7.1	850	8	9.4
	U + 100R	1300	8	6.2	832	8	9.6
	U + 500R	1140	14	12.3	880	16	18.2
	U + Koffein	1590	7	4.4	1030	8	7.8
	U + Vitamin C	1520	6	3.9	930	6	6.5
	U + Chloroquin	2005	7	3.5	1035	6	5.8
WEIBCHEN	Kontrolle	1765	6	3.4	1055	8	7.4
	Urethan (U)	1295	5	3.9	740	6	8.1
	U + 5R	1420	7	4.9	720	10	13.9
	U + 100R	1375	8	5.8	1230	15	12.2
	U + 500R	1655	9	5.4	1270	15	11.8
	U + Koffein	1830	5	2.7	1170	9	7.7
	U + Vitamin C	1700	8	4.7	765	7	9.2
	U + Chloroquin	1655	11	6.6	1220	13	10.7

Tabelle 17a: Klinische Erfahrungen mit hyperfraktionierter Strahlentherapie

<u>Tumortyp</u>	Anzahl Patienten	Dosis pro Frakt.	Frakt. pro Tag	Kürzestes Frakt.-Inter- vall (h)	Total Dosis (Gy)	Therapie- dauer (Tage)	Verbesserung vs. konvent. Therapie	<u>Bemerkungen</u>	<u>Referenz</u>
Prostata-/ Blasen-Ca	30	2.0	3	5	60	10	ja	Geringere Strahlen- belastung führt zu Verbesserung des therap. Verhältnisses	ANG et al. (1982)
T3-Blasen-Ca (präoperativ)	16	0.6	17	1	40	4	ja	Erhöhte 2-Jahr-Überle- bensrate (53% vs. 19%) aber mehr Nebenwir- kungen (Nausea)	AWAD et al. (1979)
Glioblastoma multiforme	91	0.6 -2.6	3	8	30-40	7-28	nein	Keine Unterschiede bez. Tumorkontrolle und Nebenwirkungen	SIMPSON et al. (1976)
Pharyngo- laryngeal-Ca	47	2.0	3	4	48-54	6-9	nein	55% der Fälle weisen kompl. Radionekrosen der Mucosa auf	PERACCHIA et al. (1980)
Div. Tumore der ORL-Region	56	0.9	8	2	2x36	10	ja	Stark verbesserte Über- lebensrate nach 18 Mt. (63% vs. 33%) bei leicht erhöhter Komplikations- rate (heftige Schleim- hautreaktion)	CASTERA et al. (1978)
Div. fortgeschr. Malignome	78	1.5 -2.0	2-3	5	40-93	10-26	ja	Keine Angaben über Remissionsdauer	ARCHANGELI et al. (1979)

Tabelle 17b: Klinische Erfahrungen mit superfraktionierter Strahlentherapie

<u>Tumorart</u>	<u>Anzahl Patienten</u>	<u>Dosis pro Frakt.</u>	<u>Anzahl Frakt. pro Tag</u>	<u>Kürzestes Frakt.-Intervall (h)</u>	<u>Total Dosis (Gy)</u>	<u>Therapiedauer (Tage)</u>	<u>Verbesserung vs. konv. Therapie</u>	<u>Bemerkungen</u>	<u>Referenz</u>
Harnblasen-Ca	36	1	3	3	84	28	nein	Komplikationsrate nach mehrjähriger Beobachtungszeit grösser	LITTBAND et al. (1976)
Harnblasen-Ca T3 und T4	77	1	3	4	2x42 (Int. 2 Wo.)	28	ja	Tumor-Regression 64% vs. 44% (konvent.) 58% überleben 20 Mt. (vs. 41%)	EDSYMR et al. (1978)
Glioblastoma multiforme	30	1	3	3	45-60	15-20	ja	1 Jahr Überlebensrate 44% vs. 27%	DOUGLAS et al. (1982)
Malignome der Kopf-Hals-Region	15 17	1.1 1.1-1.2	2 2	4 6	75 60-70	34 35-40	ja ja	Rezidivrate 21% vs. 40% bei histor. Kontrolle	MEDINI et al. (1980) SHUKOVSKY et al. (1976)
Burkitt-Lymphom	34	0.75	3	4	29	13	ja	58% der Patienten zeigen komplette Remission (vs. 11% bei konv. Ther.)	NORIN et al. (1977)
Hautkarzinome	48	1	3	4	84	28	ja	keine wesentlichen Komplikationen	JAKOBSSON et al. (1973)

THERAPIE URETHAN-INDUZIERTER LUNGENTUMORE

Therapiebeginn : 20 Wochen nach Urethan
 Therapiedauer : 6 Wochen
 Beurteilung : 10 Wochen nach Therapieabschluss

Behandlung		Inzidenz (%Tiere mit Lungentumoren) (4)	Mittlere Anzahl Tumore pro Lunge (4)	ϕ in mm
<u>Referenz</u>				
A)	KEINE THERAPIE	100 % (20/20)	11.35 ($\pm$ 2.1)	1.03 ($\pm$ 0.03)
<u>Therapie</u>				
B)	KONVENTIONELLE THERAPIE täglich 1 x 120 R (3)	100 % (13/13) N.S.	4.6 ($\pm$ 1.0) < 0.01	0.83 ($\pm$ 0.04) < 0.005
C)	SUPERFRAKTIONIERTER THERAPIE täglich 3 x 40 R (3)	80 % (12/15) < 0.05	4.2 ($\pm$ 0.8) < 0.005	0.83 ($\pm$ 0.04) < 0.002
D)	KONVENTIONELLE THERAPIE NACH CHLORPROMAZIN täglich 1 x CP (1) ; 1 x 120 R (3)	80 % (8/10) < 0.05	2.9 ($\pm$ 0.7) < 0.001	0.61 ($\pm$ 0.05) < 0.001
E)	SUPERFRAKTIONIERTER THERAPIE NACH CHLORPROMAZIN täglich 1 x CP (1) ; 3 x 40 R (3)	60 % (6/10) < 0.01	1.8 ($\pm$ 0.6) < 0.001	0.87 ($\pm$ 0.09) < 0.001
<u>Kontrollen</u>				
F)	CHLORPROMAZIN täglich 1 x CP (1)	100 % (13/13) N.S.	11.7 ($\pm$ 1.5) N.S.	1.0 ($\pm$ 0.03) N.S.
G)	PENTOBARBITAL täglich 1 x PB (2)	100 % (17/17) N.S.	8.2 ($\pm$ 1.6) N.S.	0.95 ($\pm$ 0.03) N.S.
H)	PENTOBARBITAL täglich 3 x PB (2)	100 % (15/15) N.S.	9.5 ($\pm$ 1.3) N.S.	1.0 ($\pm$ 0.04) N.S.
I)	PENTOBARBITAL nach CHLORPROMAZIN täglich 1 x CP (1) ; 1 x PB (2)	100 % (9/9) N.S.	9.1 ($\pm$ 1.7) N.S.	1.03 ($\pm$ 0.04) N.S.
K)	PENTOBARBITAL nach CHLORPROMAZIN täglich 1 x CP (1) ; 3 x PB (2)	100 % (9/9) N.S.	9.8 ($\pm$ 1.4) N.S.	1.08 ($\pm$ 0.05) N.S.

(1) CP = 6 mg/kg Chlorpromazin i.p.; (2) PB = 60 mg/kg Pentobarbital i.p. vor Bestrahlung; (3) R = Ionendosis 250kV Röntgenstrahlen (Bestrahlung unter Pentobarbital); (4) p-Werte zur Charakterisierung der Irrtumswahrscheinlichkeit des Unterschiedes zur Referenzgruppe (keine Therapie) und zwar im Chi-Quadrat-Test (Inzidenz), t-Test (Tumorzahl) und U-Test (Tumorgroße). Für die Tumorzahl ergibt sich im U-Test für alle Therapie-Serien eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%.

Tabelle 19

Histologische Beurteilung einer zufällig getroffenen Auswahl von Lungentumoren aus jeder Behandlungsgruppe zur Abklärung der Übereinstimmung des histologisch charakterisierten Tumortyps mit der entsprechenden Grössenklasse

Versuchsserie *	Anzahl Tumore					
	total untersucht	Grössenklassen 1 und 2 **)	Histologische Klassen A und B	Grössenklassen 3 und 4	Histologische Klassen C und D	Übereinstimmung Grössenklasse und histolog. Klasse
<u>Referenz</u>						
A	16	11	12	5	4	15/16 (94%)
<u>Therapie</u>						
B	10	7	10	3	0	7/10 (70%)
C	9	8	8	1	1	9/9 (100%)
D	11	9	10	2	1	10/11 (91%)
E	9	7	7	2	2	9/9 (100%)
<u>Kontrollen</u>						
F	15	9	8	6	7	14/15 (93%)
G	9	7	8	2	1	8/9 (89%)
H	10	6	4	4	6	8/10 (80%)
I	10	6	7	4	3	9/10 (90%)
K	9	5	6	4	3	9/10 (90%)

*) A-K entspricht den unterschiedlichen Behandlungsgruppen gemäss Tabelle 18

**) Definition von Grössen- und histolog. Tumorklassen s. Tabelle 10

A b b i l d u n g e n

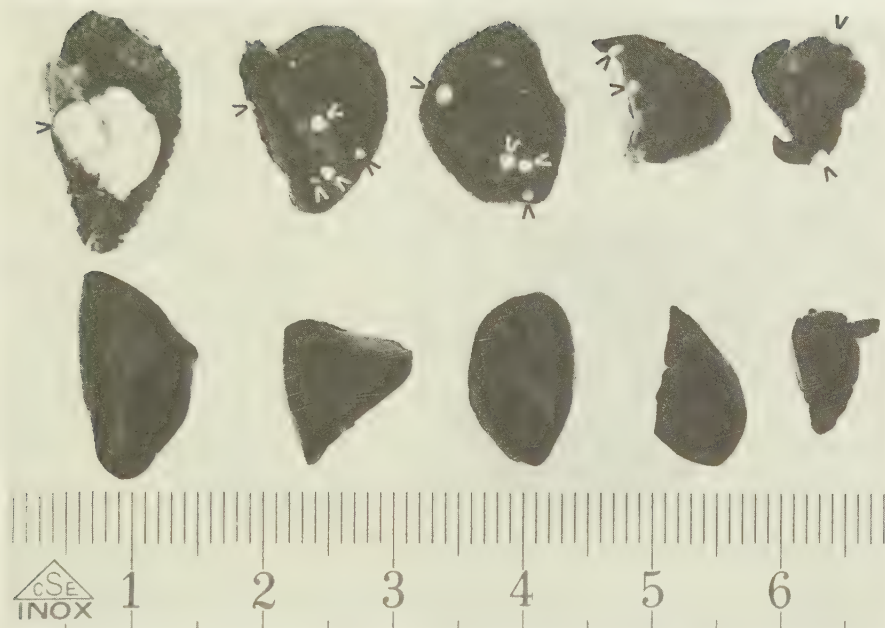


Abbildung 1

Lunge eines mit Urethan behandelten Tieres (obere Reihe) und eines unbehandelten Kontrolltieres (untere Reihe).

Durch die selektive Färbung des gesunden Gewebes erscheinen die Tumorgebiete als weisse Flecke (Pfeile).

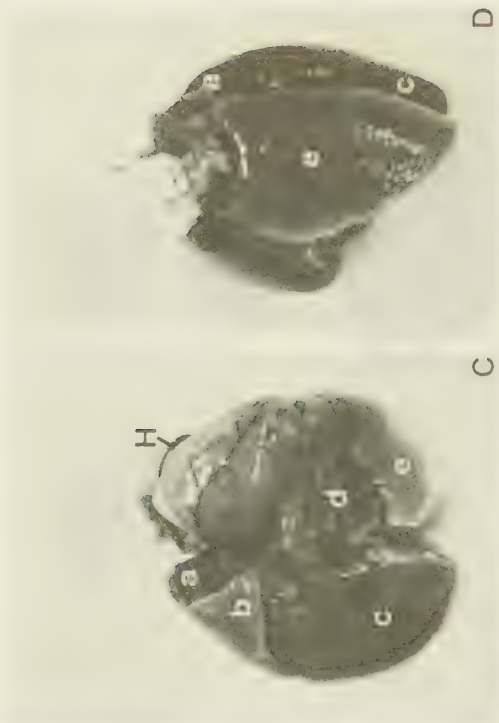
Die 5 Lungenlappen (vgl. Abbildung 2) sind von links nach rechts in folgender Reihenfolge dargestellt: linker Lobus, unterer rechter Lobus, oberer rechter Lobus, mittlerer rechter Lobus, Herzlobus.



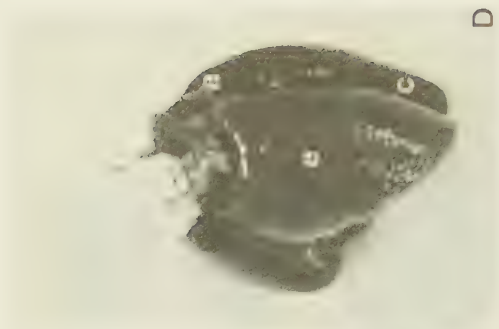
A



B



C



D

Abbildung 2: Aufbau der Lunge einer Maus

A: Dorsalansicht; B: Lateralansicht der rechten Lungenhälfte; C: Ventralansicht; D: Lateralansicht der linken Lungenhälfte; E: Lunge zerlegt (5 Lappen)

a = oberer rechter Lappen; b = mittlerer rechter Lappen; c = unterer rechter Lappen; d = Herzlobus; e = linker Lobus; H = Herz



E

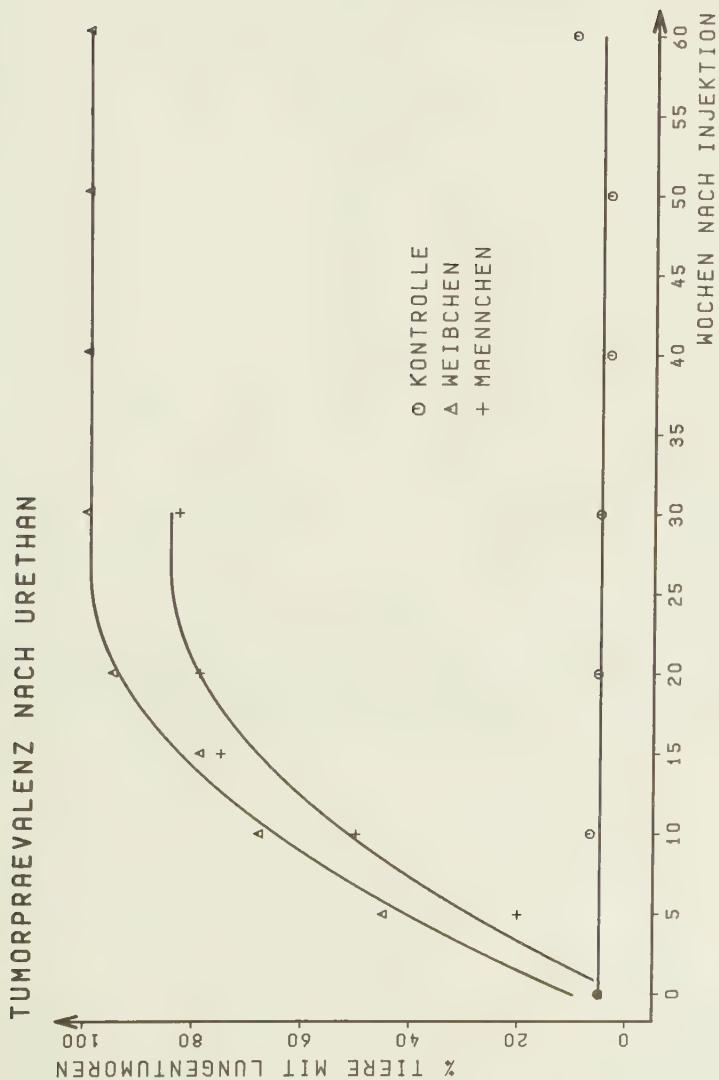


Abbildung 3: Prävalenz makroskopisch erkennbarer Lungentumore in Abhängigkeit vom zeitlichen Abstand zur Urethan-Behandlung. Die Beziehung lässt sich formal beschreiben als $y = -0.1283x^2 + 6.7821x - 0.074$ (Weibchen), bzw. $y = -0.118x^2 + 6.33x - 0.074$ (Männchen)

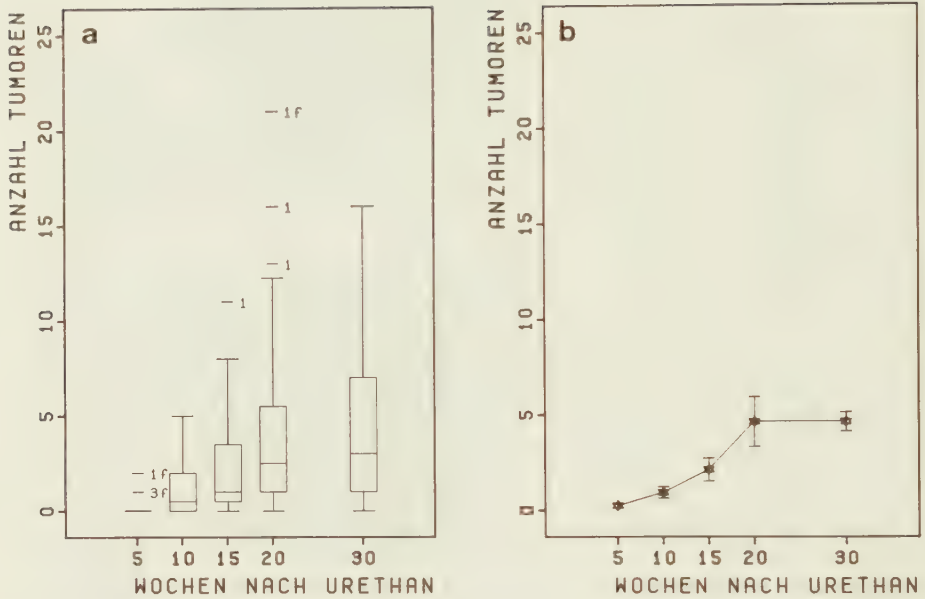


Abbildung 4: Tumorfrequenz der männlichen Versuchstiere in Abhängigkeit von der Zeit nach Urethan-Injektion. Zum Vergleich sind die Daten links in Form eines "box-and-whisker-plot" (a) dargestellt und rechts als Mittelwerte mit ihren Standardfehlern (b). Weitere Erläuterungen im Text (Kapitel 2.3.1)

ANZAHL TUMOREN PRO VERSUCHSTIER

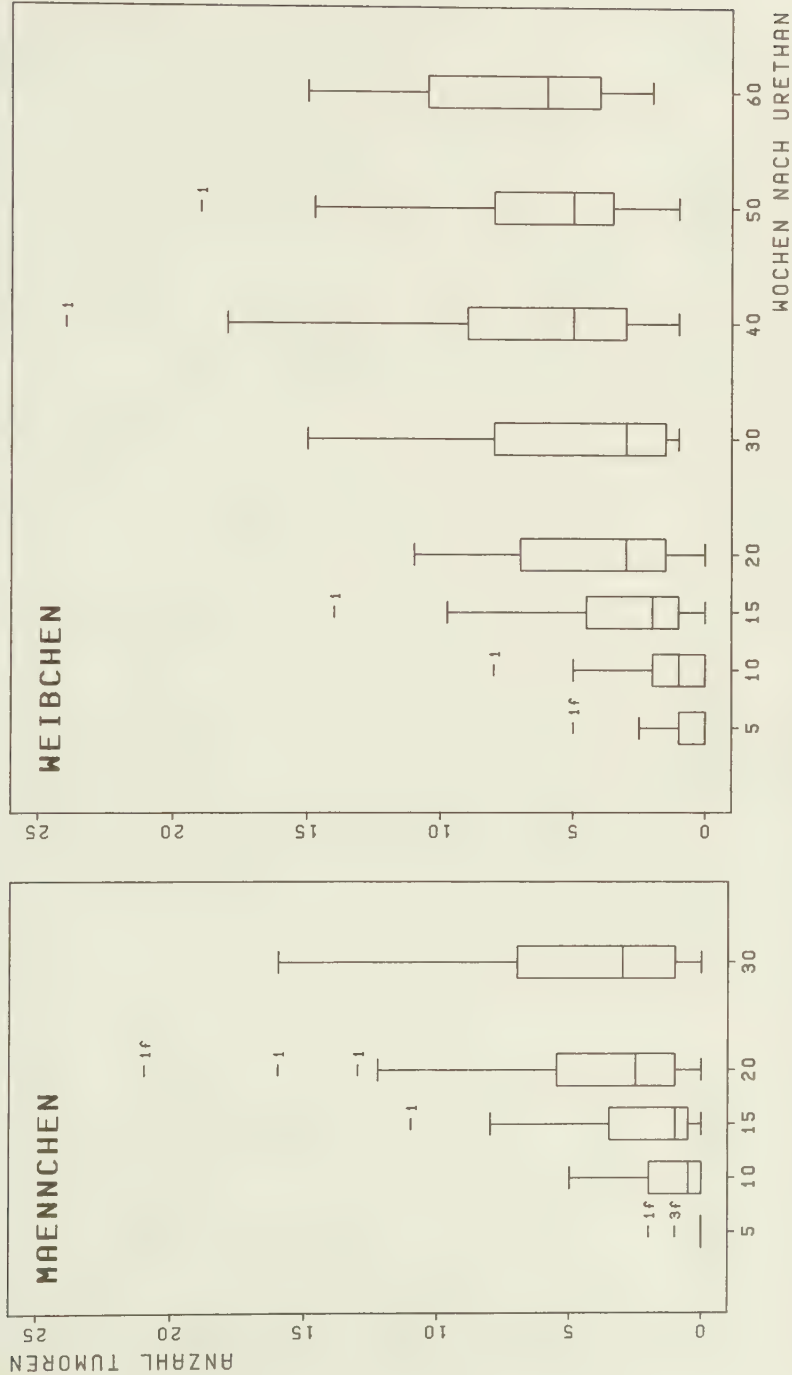
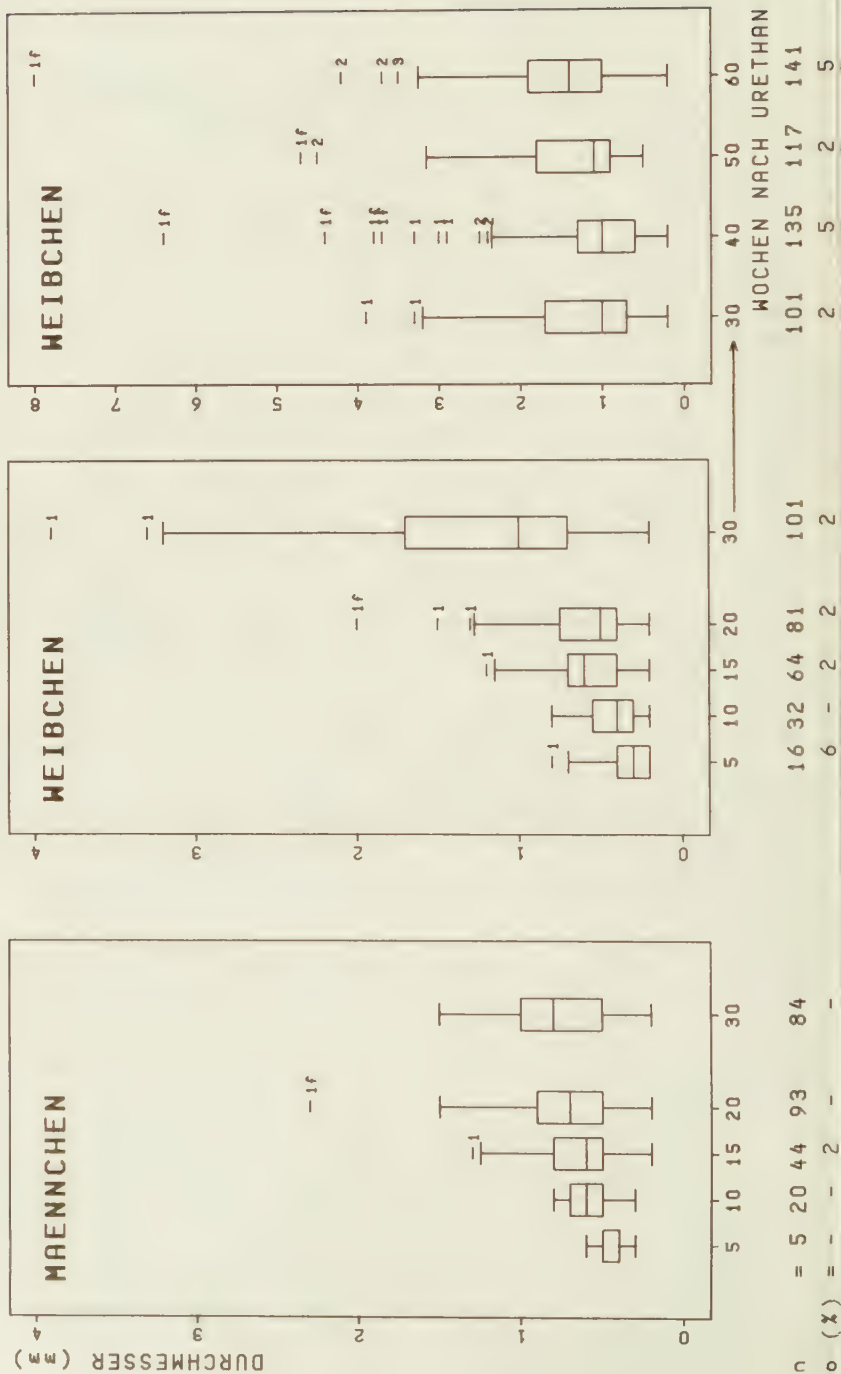


Abbildung 5: Box-plot-Darstellung der Tumorfrequenz zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Urethan-Injektion.

Abbildung 6:

TUMORWACHSTUM: GEMESSENE DURCHMESSER ZU UNTERSCHIEDLICHEN ZEITEN
NACH EINMALIGER i.p.-INJEKTION VON URETHAN (0.8 mg/kg)



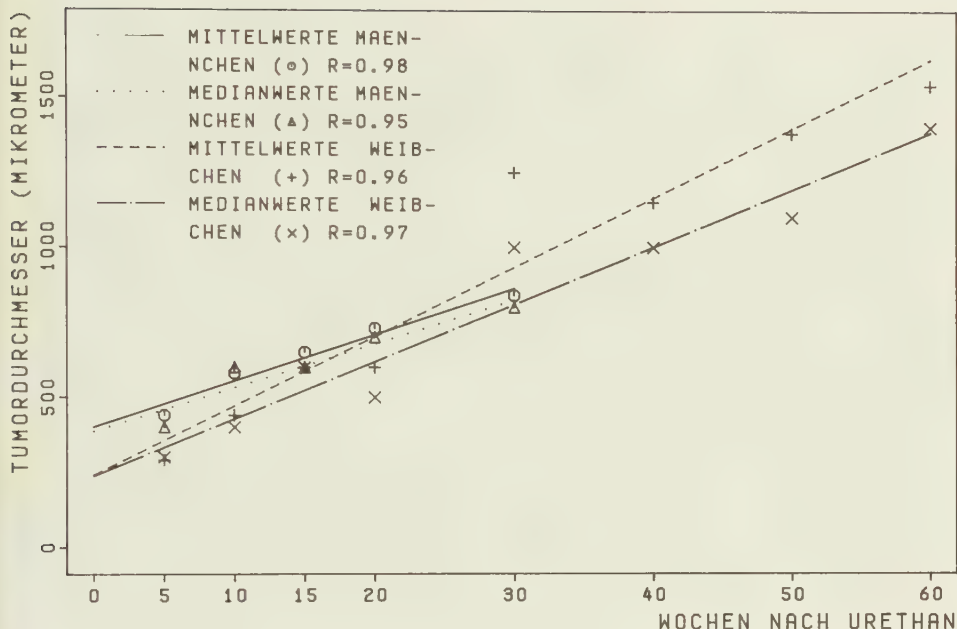


Abbildung 7: Tumorgrösse in Abhängigkeit vom Zeitintervall zwischen der Urethangabe und der Beurteilung (Regressionslinien).

Die Berechnung der linearen Regression für Mittel- und Medianwerte der Tumordurchmesser zeigt, dass die Daten mit R-Werten zwischen 0.95 und 0.98 recht gut einer linearen Funktion entsprechen.

Die Zunahme des mittleren Tumordurchmessers beträgt für die Männchen 4.07 Mikrometer pro Tag ($y = 0.0154x + 0.401$) und für die Weibchen 3.87 Mikrometer pro Tag ($y = 0.0231x + 0.241$). Gemessen am Schwerpunkt der Datenverteilung (Medianwert) ergibt sich eine Zunahme von 3.92 Mikrometer pro Tag ($y = 0.0146x + 0.386$) für die Männchen und von 3.30 Mikrometer pro Tag ($y = 0.0191x + 0.237$) für die Weibchen.

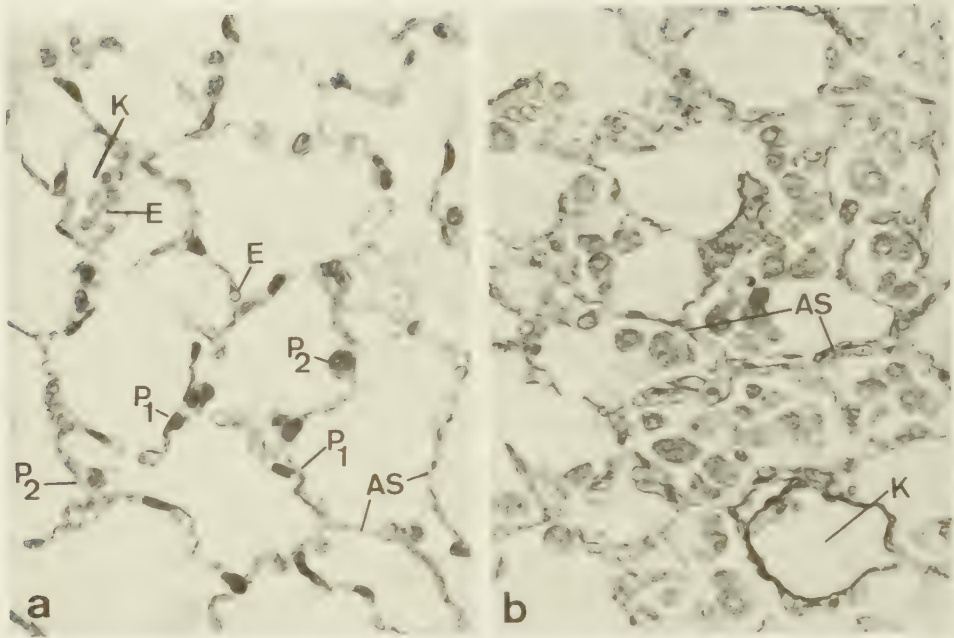


Abbildung 8

Histologische Schnitte durch das distale Lungengewebe.

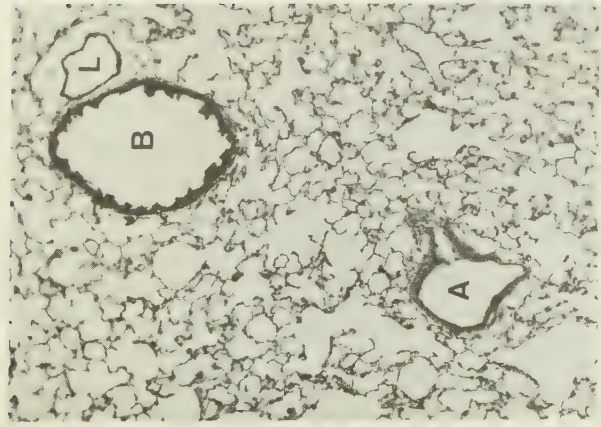
a) Unbehandelte Lunge mit der typischen Netzstruktur der Alveolen.

b) Lokales Auftreten interalveolärer Zellanhäufungen, sog. hyperplastische Foci, die als Tumor-Vorstadien angesehen werden können. Details siehe Text Kapitel 2.3

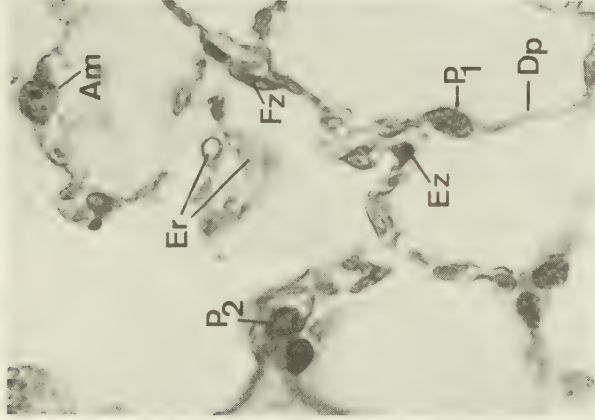
AS = Alveolarsepten; E = Erythrozyten; K = Blutkapillare;

P₁ = Pneumozyt-1; P₂ = Pneumozyt-2

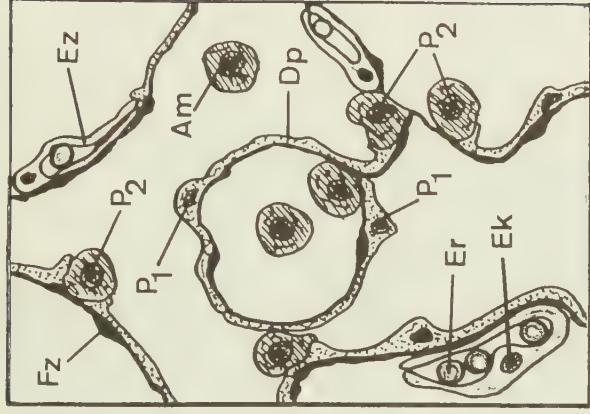
(Vergrößerung 500x; Färbung: Hämalaun-Eosin)



a



b



c

Abbildung 9: Histologisches Bild der Alveolen (Lungenbläschen)

a) Typische Netzstruktur der Alveolen einer gesunden Lunge (Vergrößerung: 125x)
 b) Aufbau der Alveolarsepten (Vergrößerung: 1250x)

c) Schematische Darstellung des zellulären Aufbaus der Alveolen.

A = Arterie; Am = Alveolarmakrophag; B = Bronchiolus; Dp = Deckplatte eines Pneumozyt-1; Ek = Endothelkern; Er = Erythrozyt; Ez = Endothelzelle; Fz = Fibrozyt; P₁ = Pneumozyt-1; P₂ = Pneumozyt-2; L = Lymphgefäß

Abbildung 10 (Teil 1)

Ultrastruktur der Alveolar-Epithelzellen (Pneumozyten)
(Legende am Schluss der Abbildungsserie)

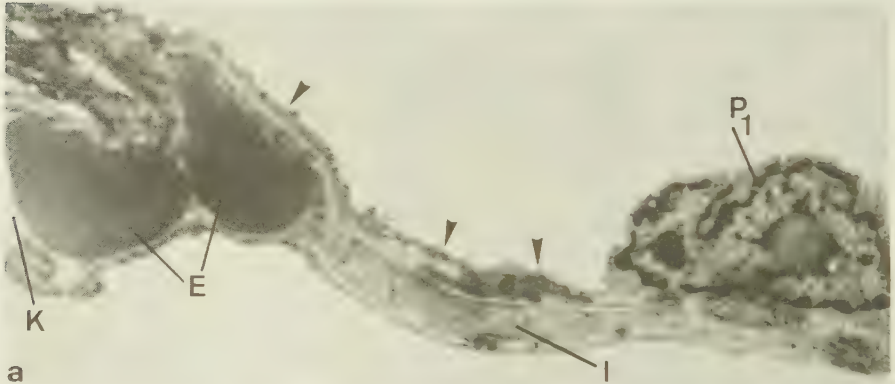
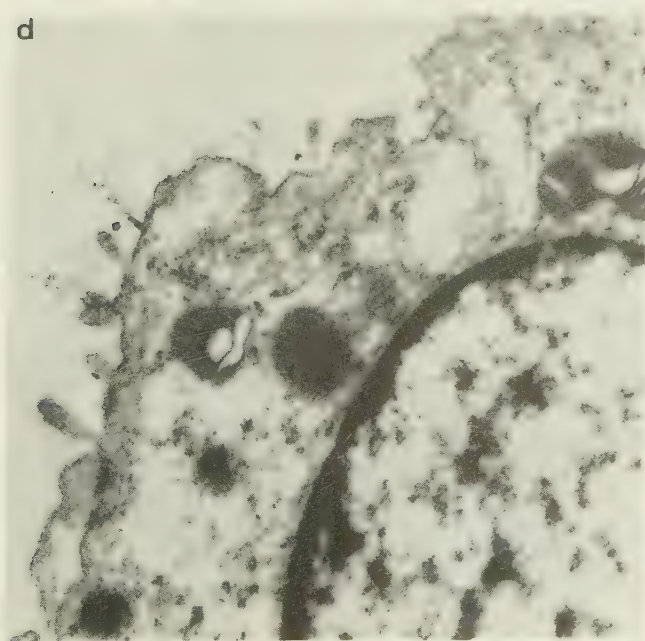
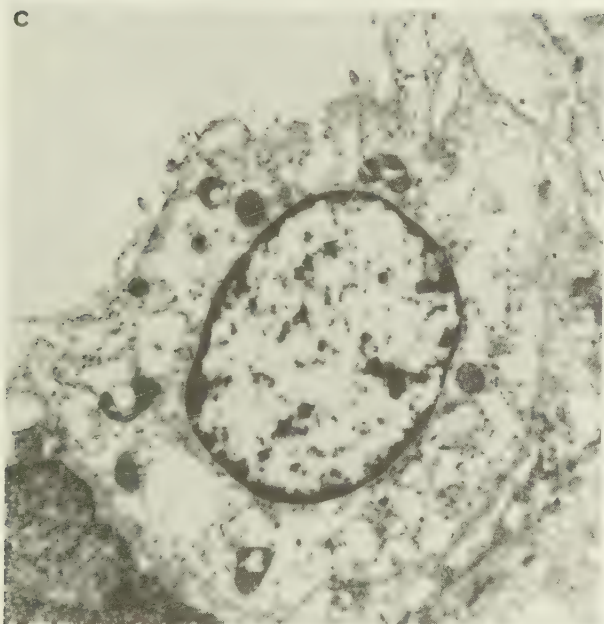
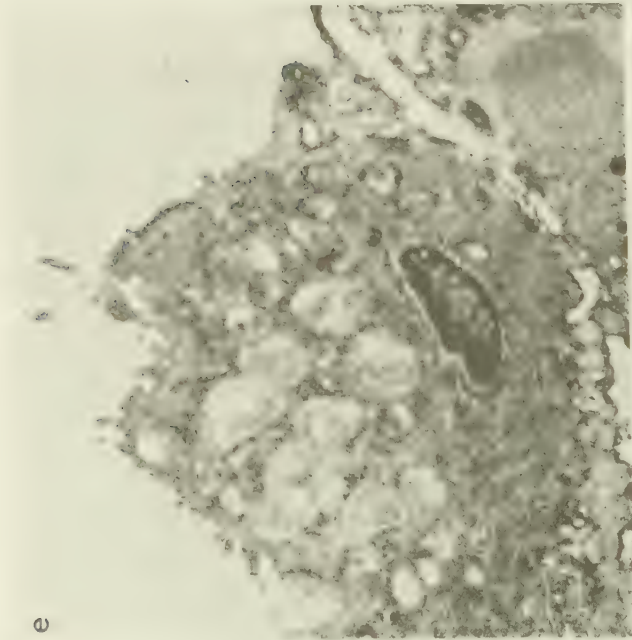


Abbildung 10 (Teil 2)



e



f



Abbildung 10 (Schluss)

- a) Pneumozyt-1. Die Pfeile kennzeichnen die membranartige Zytoplasma-Deckplatte. (P_1 =Zellkern des Pneumozyten; E=Erythrozyten; I=Interstitium mit Fibrillen; K=Blutkapillare (11'598x)
- b) Pneumozyt-2 mit charakteristischen "lamellar-bodies" (Pfeile) und oberflächlichen Mikrovilli (MV) (11'598x)
- c) und d) Übersicht (11'598x) und Detail (26'625x) eines Pneumozyt-2 mit Lamellenkörperchen, deren Struktur an Mitochondrien erinnert.
- e) und f) Pneumozyten-2 Urethan-behandelter Tiere mit zahlreichen vergrößerten Lamellarkörperchen (11'598x)

Abbildung 11: Makrophagen (Legende am Schluss
der Abbildungsserie)

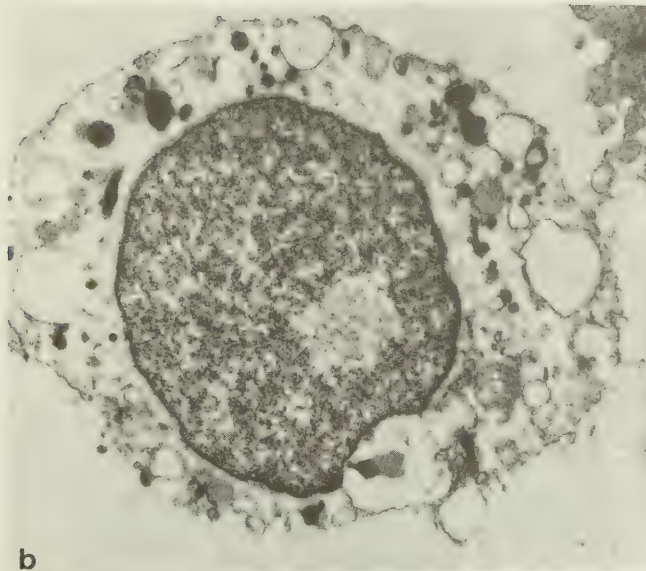
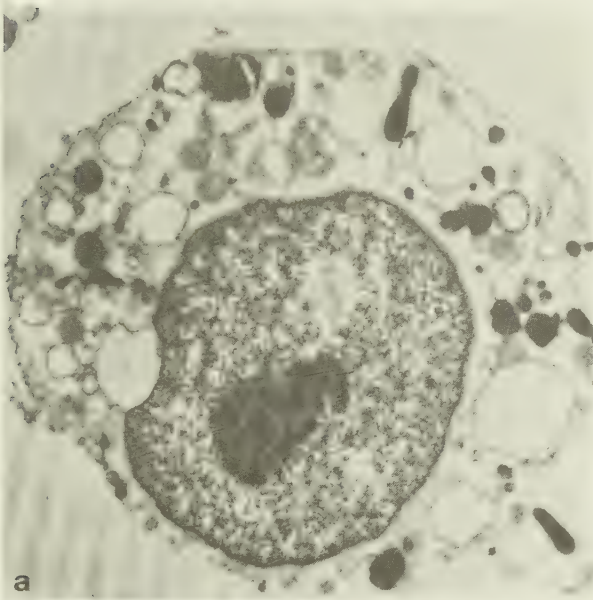
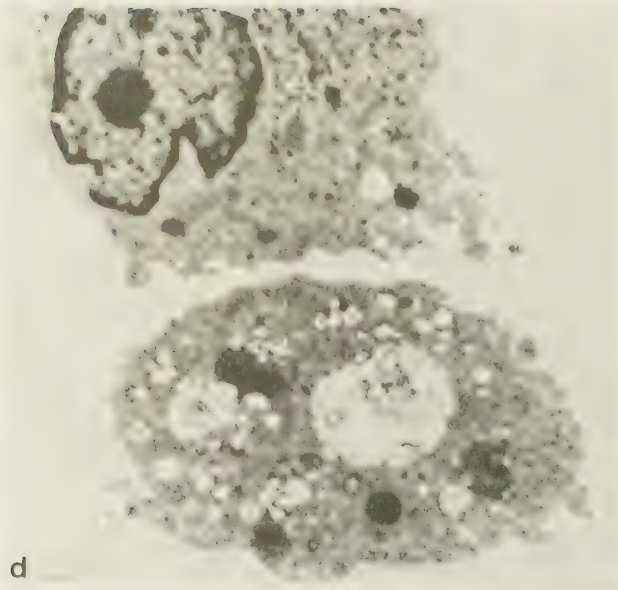
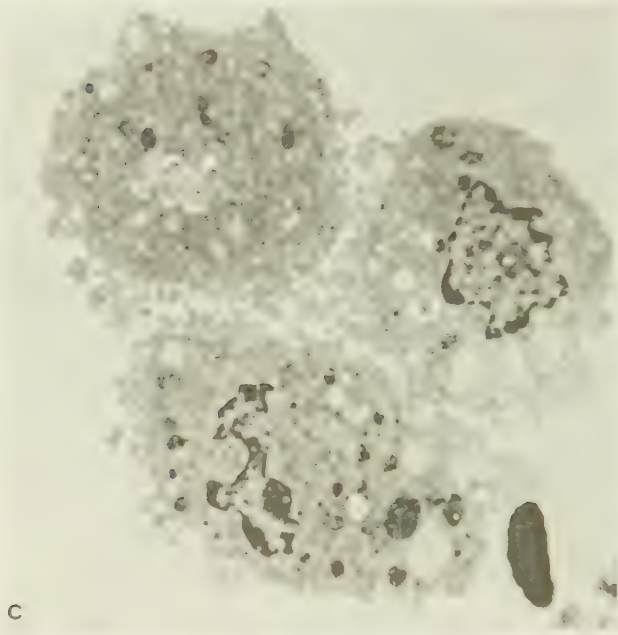


Abbildung 11 (Fortsetzung)



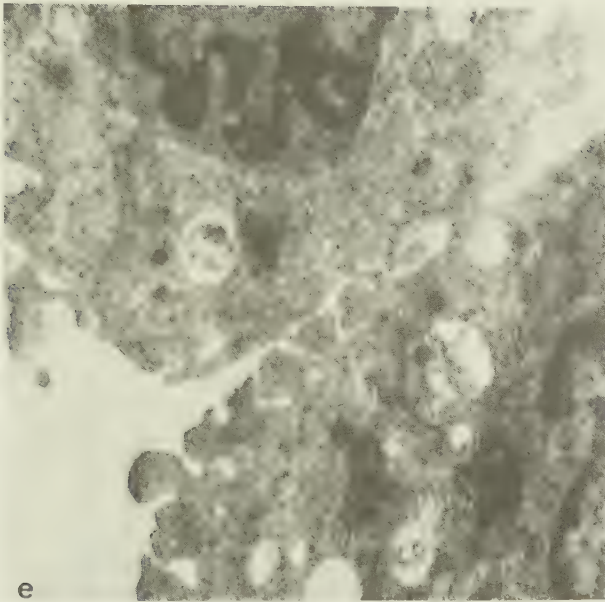


Abbildung 11 (Schluss)

- a) und b) Makrophagen vom Typ 1 (11'598x)
- c) Aggregation von Typ-2-Makrophagen, die zahlreiche oberflächliche Mikrovilli aufweisen (6'048x)
- d) und e) Typ-2-Makrophagen mit myelinartigen Zytoplasmaeinschlüssen, die an Lamellarkörperchen erinnern (10'500x resp. 20'880x)

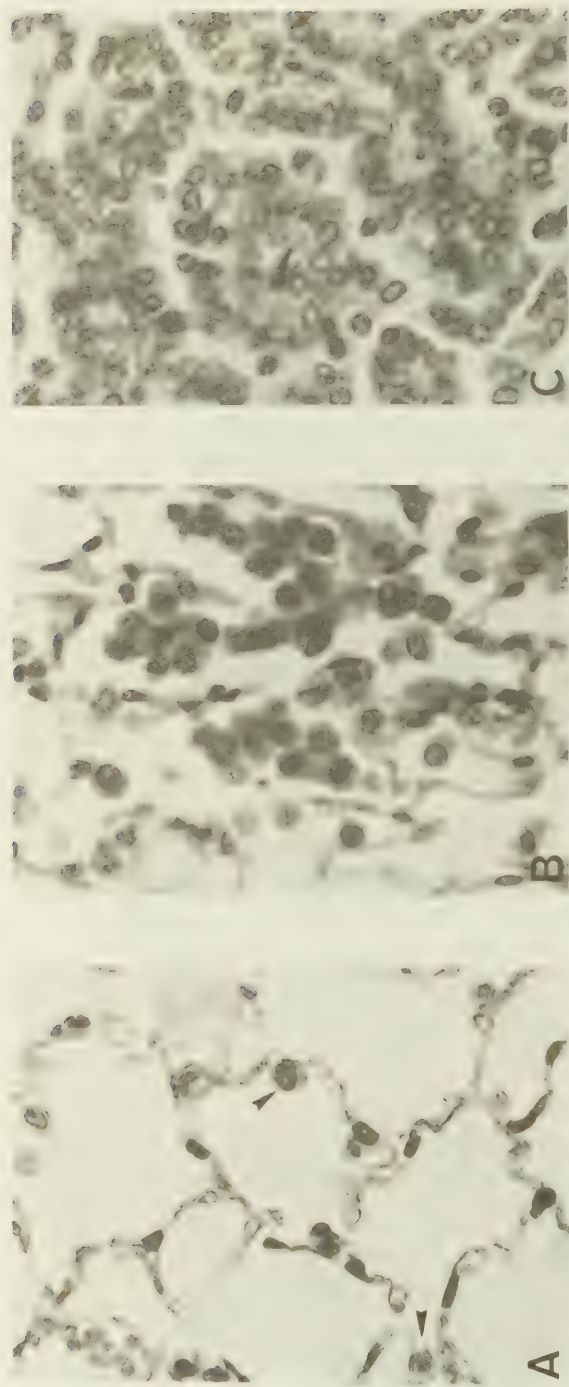


Abbildung 12: Entwicklung eines alveolären Lungenadenoms

- A) Normales Alveolarnetz einer unbehandelten Lunge mit wenigen Pneumozyten-2 (Pfeile)
- B) Lokal begrenzte Proliferation transformierter Pneumozyten-2 wenige Wochen nach Urethan. Die Alveolarräume werden aufgefüllt und es bilden sich sogenannte Hyperplastische Foci
- C) Progression und Verdichtung der transformierten Zellen zu einem Tumor.

(A und B: 780x; C: 665x)

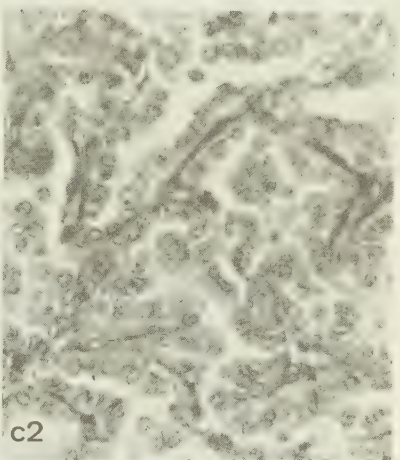
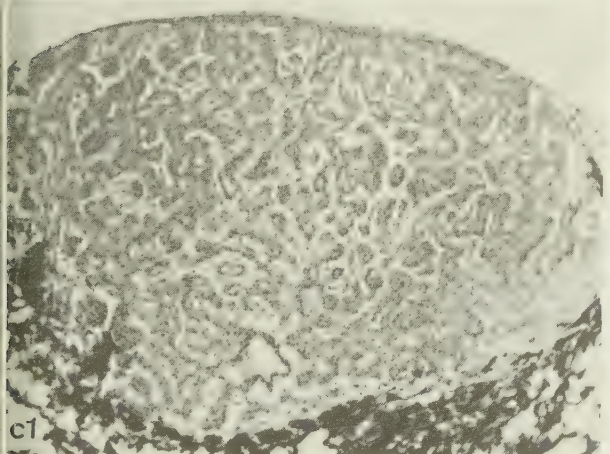
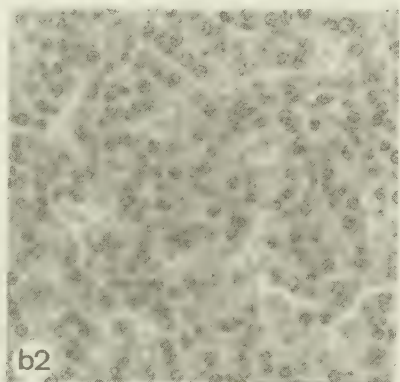
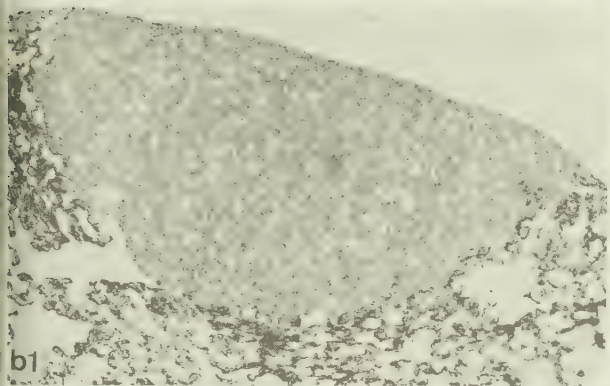
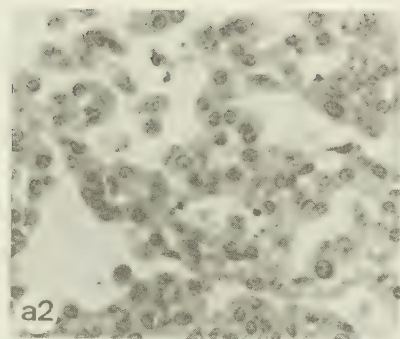
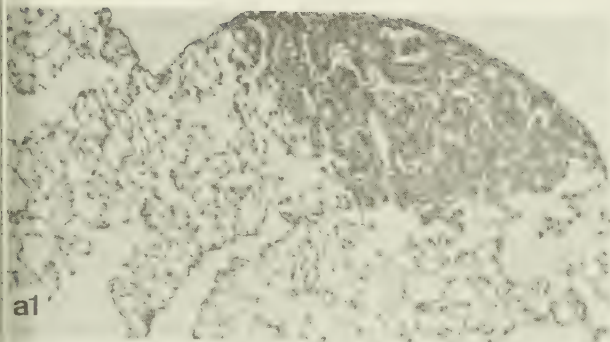
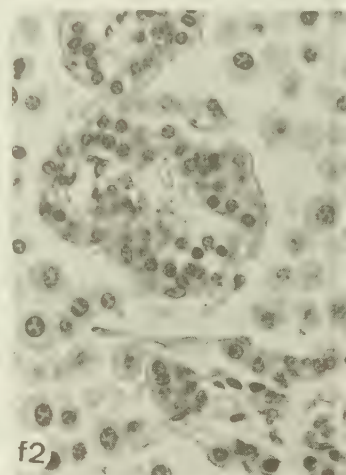
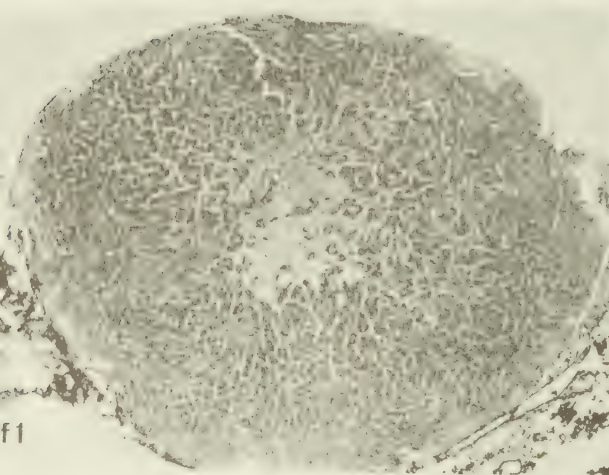
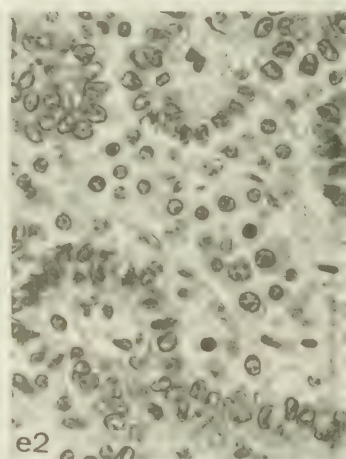
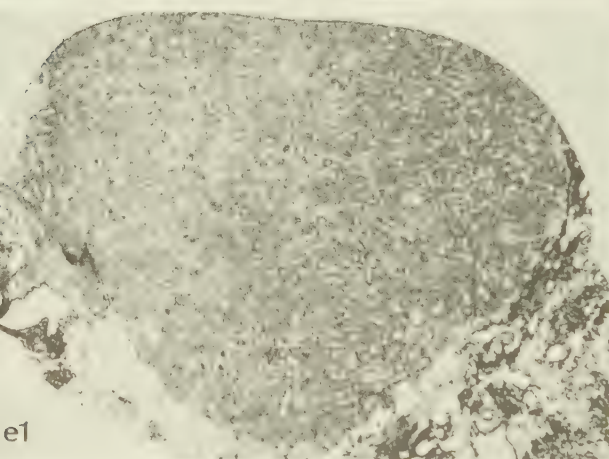
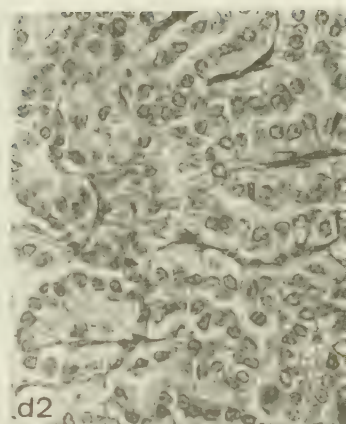
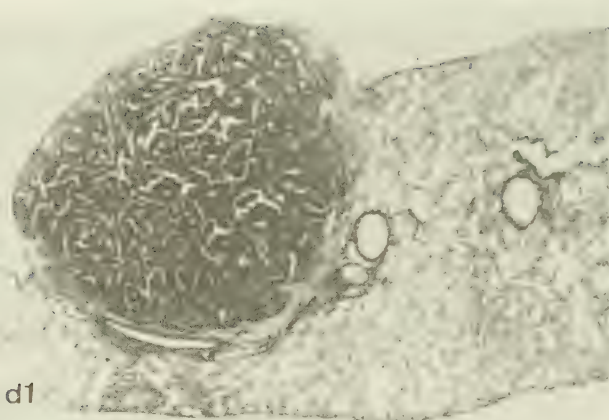


Abbildung 13 (Teil 1)

Entwicklung und Veränderung der durch Urethan induzierten subpleuralen Lungentumore (Legende am Schluss der Abbildungsserie)



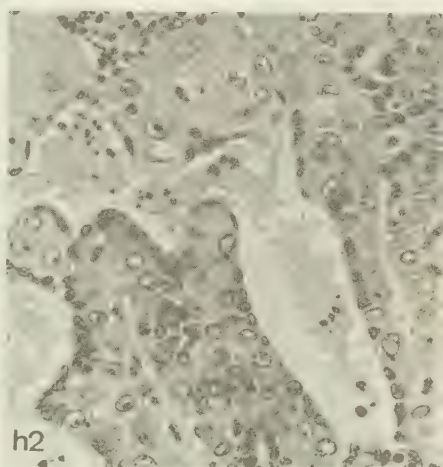
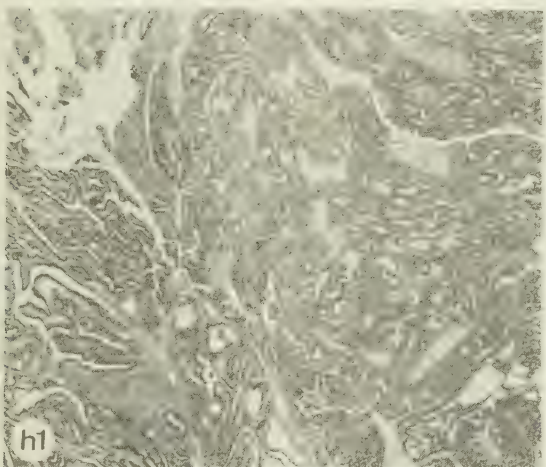
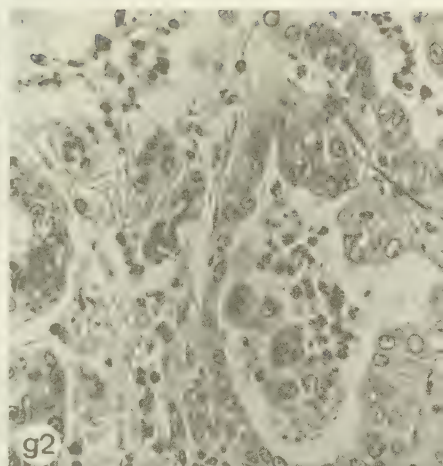
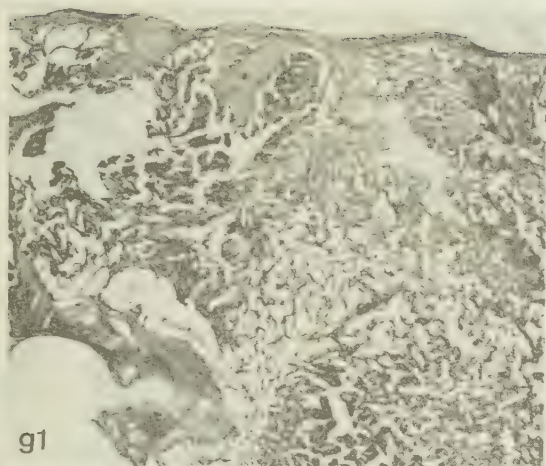


Abbildung 13 (Schluss)

Von a) bis h) sind Tumore zunehmender Malignität dargestellt und zwar jeweils auf der linken Seite in der Uebersicht (a1, a2 und a3 = 125x; übrige = 31x) und rechts davon als Detail-Vergrößerung in vergleichbarem Massstab (alle 500x)

- a) und b) Frühes und ausgeprägtes trabekuläres Adenom (Typ A)
- c) Papillarisierung und Zellumformung (Typ B)
- d) Papilläres zylinderezelliges Adenom (Typ C)
- e) und f) Papilläres Karzinoid mit Tendenz zu Kernpolymorphie und Nekrose (Typ D)
- g) und h) Papilläres Karzinom mit ausgeprägten Malignitätsmerkmalen, wie Hyperchromasie, Kernpolymorphie, Destruktion, Nekrose (Typ E)

Die Charakterisierungskriterien für die Einteilung in die Klassen A bis E entnehme man der Tabelle 10 und dem Text (Kapitel 2.3.2)

Abbildung 14

Fotografische Rekonstruktion eines Querschnitts durch einen tumortragenden Lungenlappen (31x).

- A= Arterie
- B= Bronchiolus
- G= Alveolargang
- L= Bronchopulmonaler Lymphknoten (Hilus)
- LA= Lappenarterie
- LB= Lappenbronchus
- LV= Lappenvene
- TB= Terminaler Bronchiolus
- V= Vene

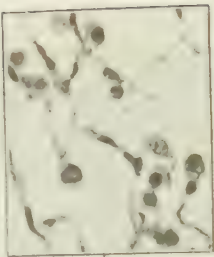
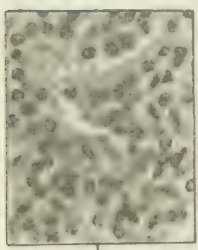
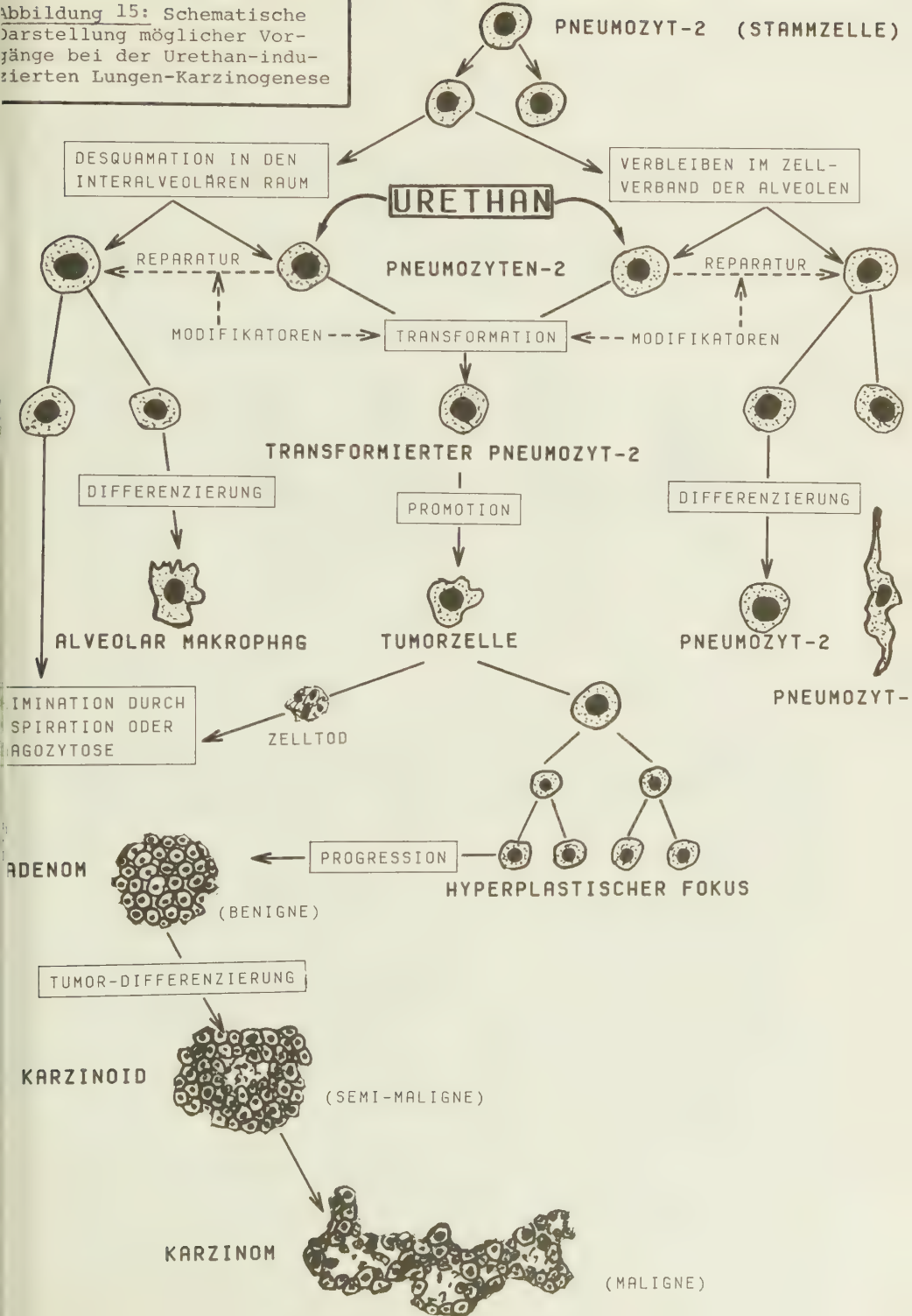


Abbildung 15: Schematische Darstellung möglicher Vorgänge bei der Urethan-induzierten Lungen-Karzinogenese



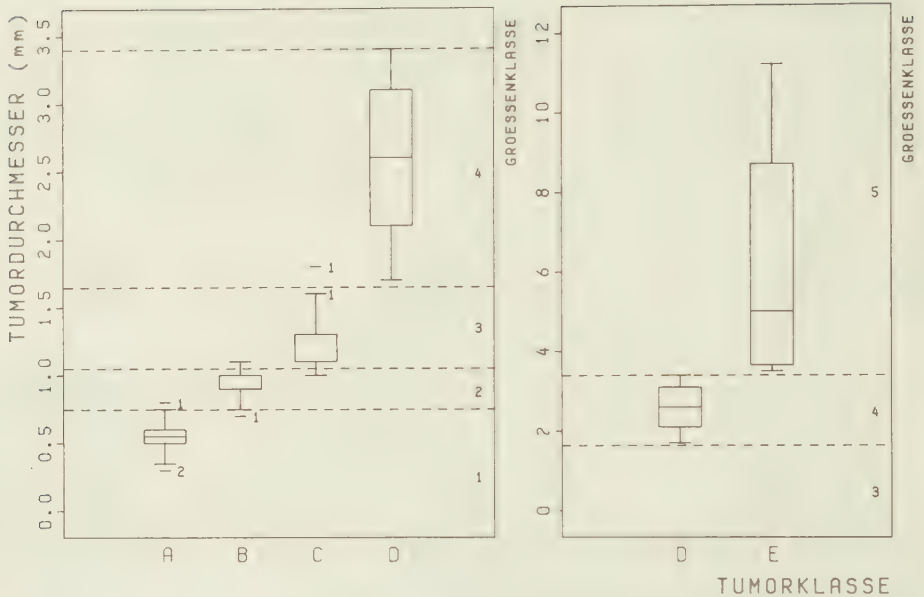
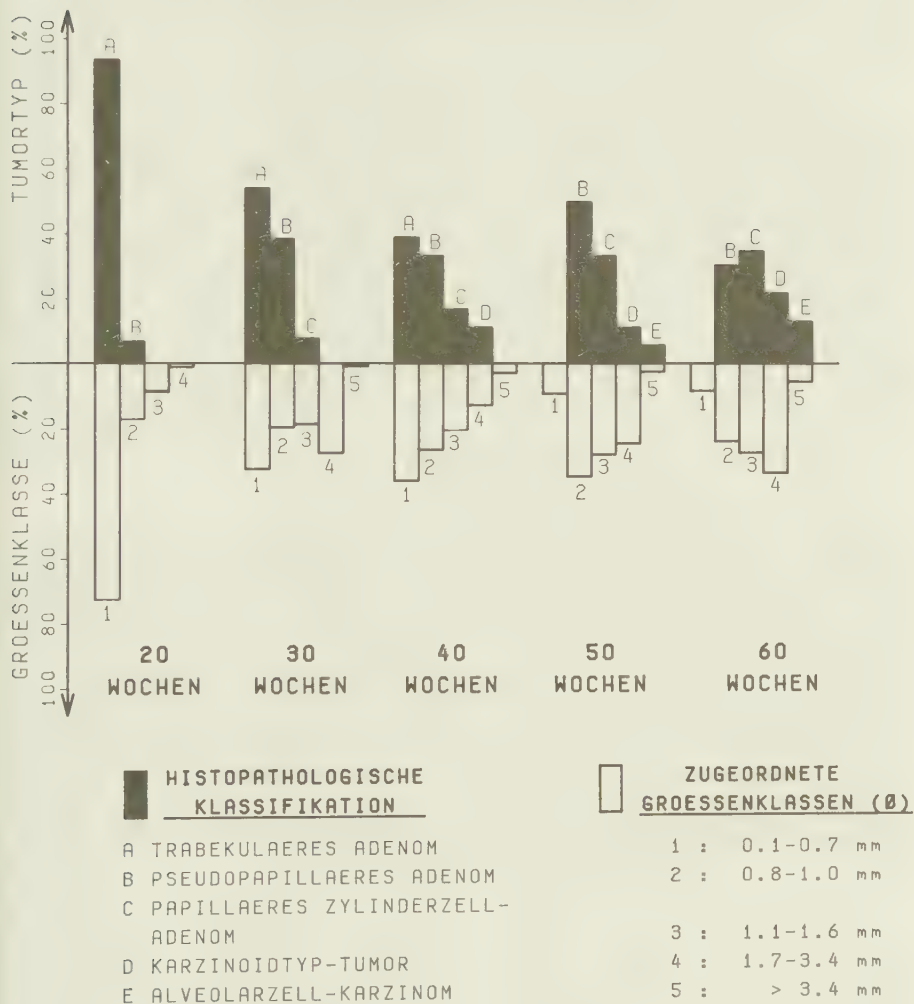


Abbildung 16: Graphische Darstellung der Größenverteilung der Tumore der Klassen A bis E aus der für die histopathologische Beurteilung getroffene Auswahl (box-plot) und Bereich der stellvertretend gewählten Größenklassen 1 bis 5 (gestrichelte Linien) für die Gesamtheit der induzierten Lungentumore. (siehe auch Tabelle 11 und Text Kapitel 2.3.2).

Abbildung 17

TUMOR-ENTWICKLUNG 20-60 WOCHEN NACH URETHAN



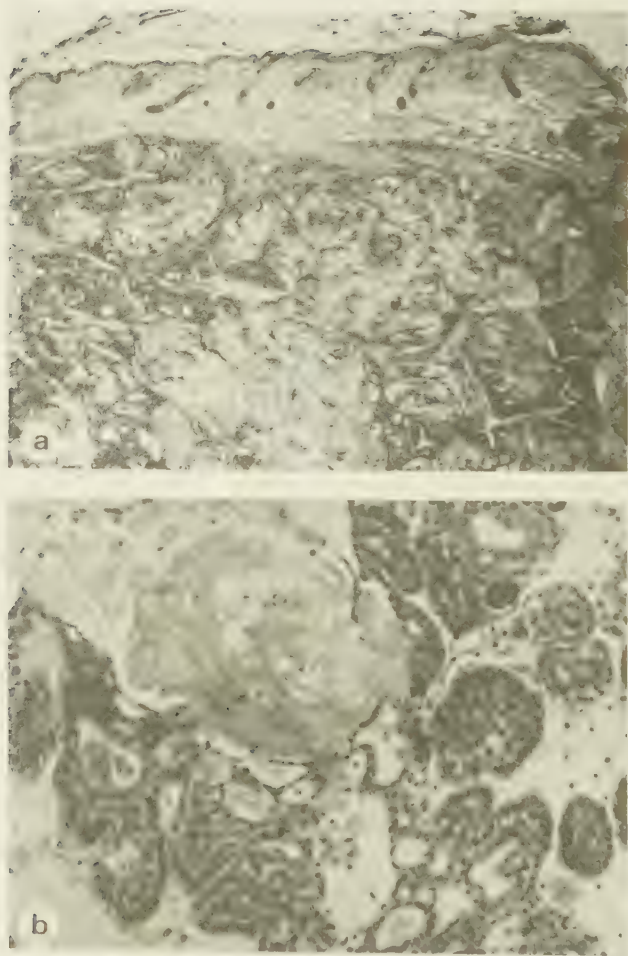


Abbildung 18

- a) Subkutaner Knoten mit kerato-dermatöser Veränderung fraglicher Genese in der Axilla eines behandelten Tieres, 50 Wochen nach Urethangabe. (Vergrößerung: 31x)
- b) Ausschnitt aus dem selben Knoten mit verhornender Zone und adenoiden Strukturen aus soliden Strängen von Zellen, deren Differenzierungsgrad keine eindeutigen Schlüsse bezüglich Herkunft zulässt. (Vergrößerung: 240x)

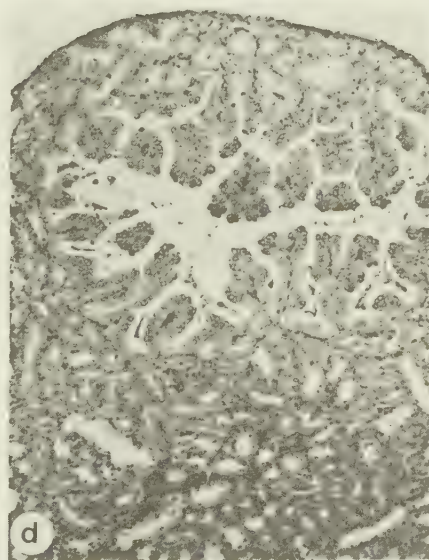
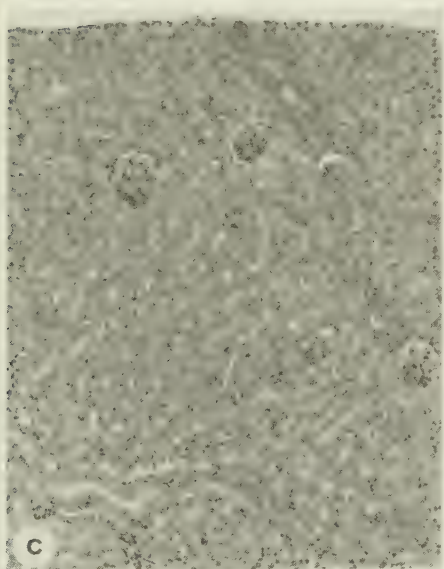


Abbildung 19: Extrapulmonale Organbefunde (Teil 1)

- a) Niere eines unbehandelten Tieres mit zahlreichen Glomeruli (41x)
- b) Adenomatös veränderte Niere mit wenigen Glomeruli und Cystenbildung (Cystadenom) in einem Urethan-behandelten Tier (41x)
- c) Ausschnitt aus a) (166x)
- d) Ausschnitt aus b) (166x)

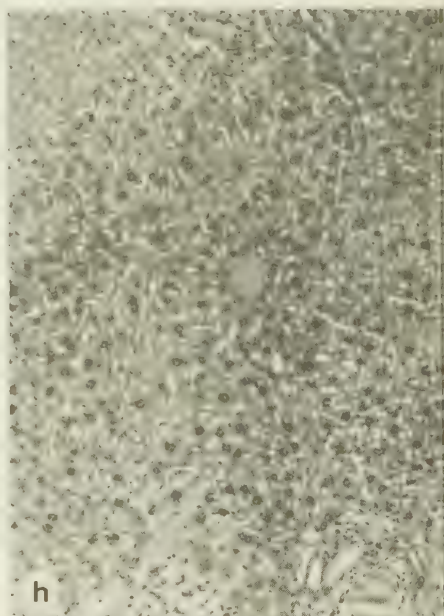
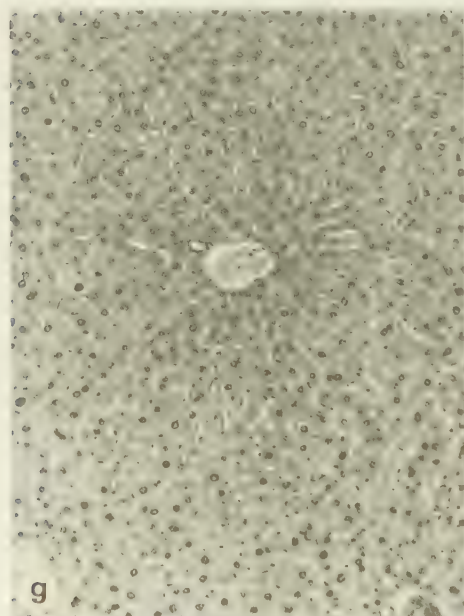


Abbildung 19: Extrapulmonale Organbefunde (Teil 2)
(Kommentar am Ende der Abbildungsserie)

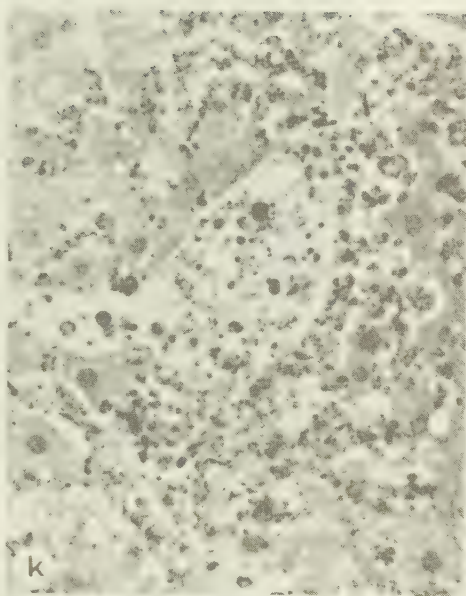
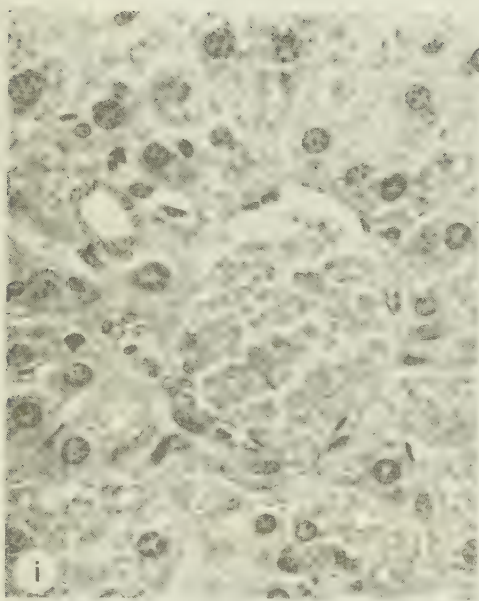
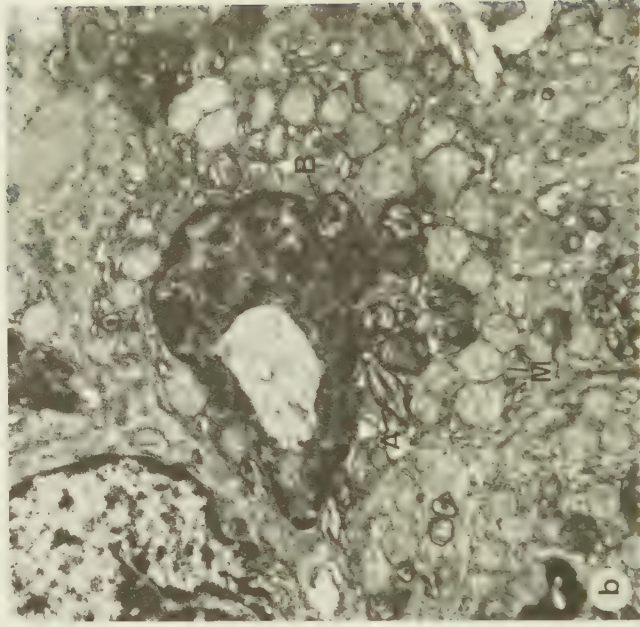
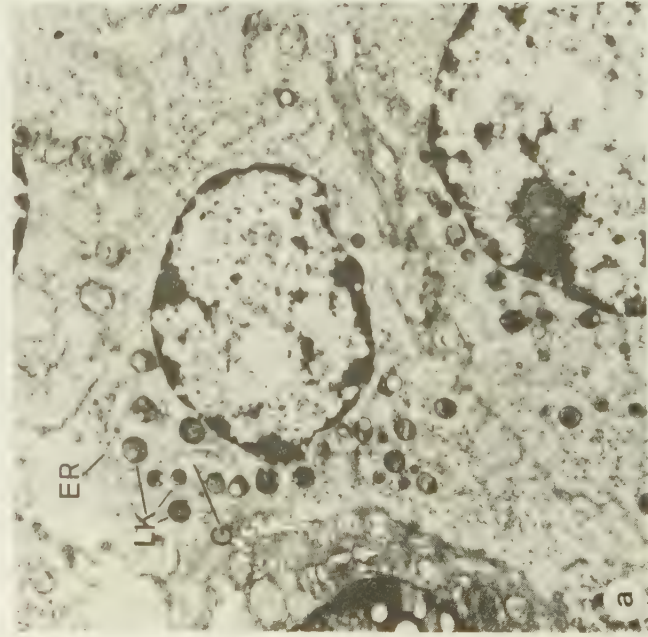


Abbildung 19: Extrapulmonale Organbefunde (Schluss)

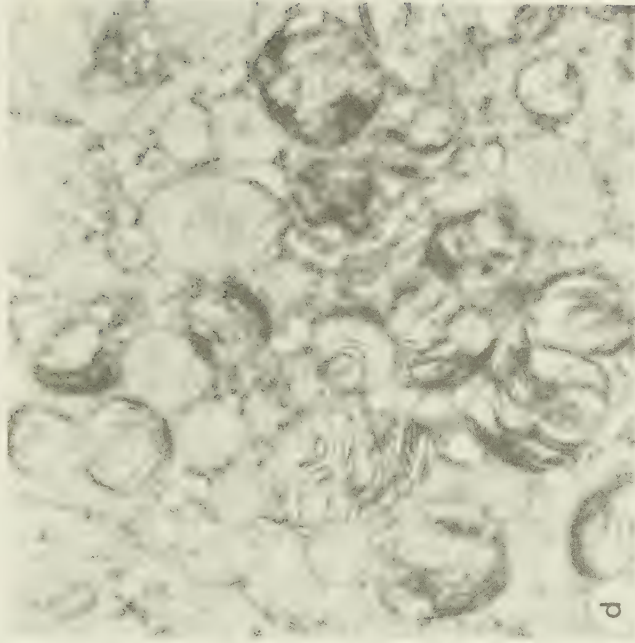
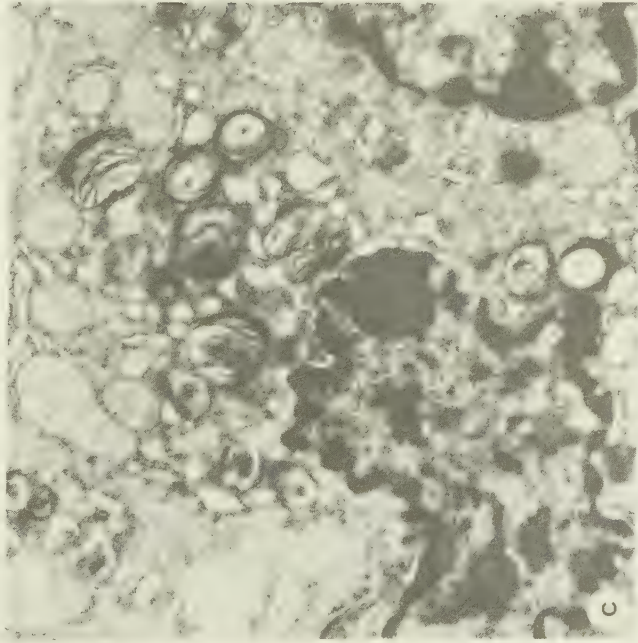
- e) Gesundes Leberparenchym (41x)
- f) Leberparenchym eines Urethan-behandelten Tieres mit Vakuolisierungstendenz und Nekroseherden, die von Granulationsgewebe umgeben sind (41x)
- g) Gesundes Läppchen aus e) (166x)
- h) Leberläppchen aus f) mit Verfettung (166x)
- i) Leberläppchen mit Vena centralis (500x)
- k) Läppchen-Zone mit nekrotischem Gewebe aus f)

Abbildung 20: Ultrastruktur des Urethan-induzierten Lungen-Adenoms der Maus (Teil 1)



- a) Tumorzelle mit zahlreichen osmiophilen Körperchen (lamellar-bodies; Lamellarkörperchen - LK), Golgi-Vesikeln (G) und endoplasmatischem Retikulum (ER) mit vielen Ribosomen (8'042x)
- b) Tumorzelle mit zahlreichen grossen Mitochondrien(M) und Lamellarkörperchen unterschiedlicher Erscheinungsform. Für dieses polymorphe Erscheinungsbild der Lamellarkörperchen dürften sowohl unterschiedliche Entwicklungsstadien, wie auch präparative Zufälle verantwortlich sein. Es ist vorstellbar, dass die beiden mit A und B bezeichneten Lamellarkörperchen eine ähnliche Form aufweisen, aber durch ihre senkrecht zueinander stehende Lage einmal längs (A) und einmal quer (B) geschnitten sind (8'042x)

Abbildung 20: Ultrastruktur des Urethan-induzierten Lungen-Adenoms der Maus (Teil 2)

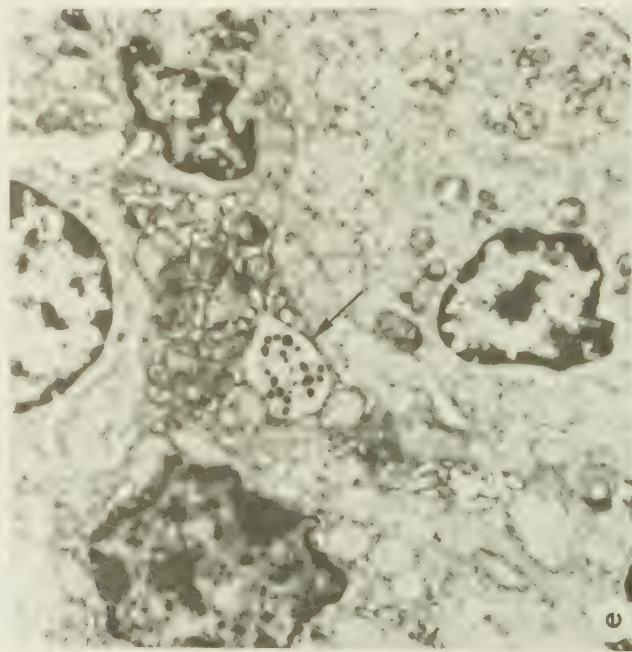


Variationsmöglichkeiten der Gestalt von Lamellarkörperchen

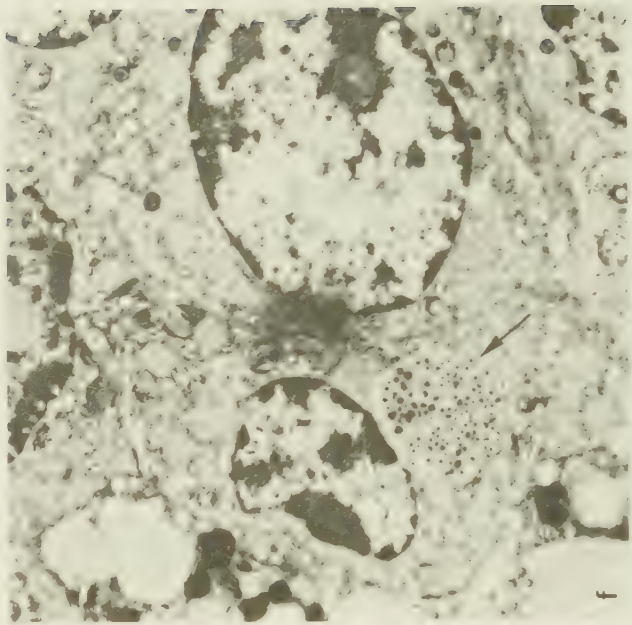
c) 16'019x

d) 20'880x

Abb. 1. Ultrastruktur des Urethan-induzierten Lungen-Adenoms der Maus (Teil 3)



e



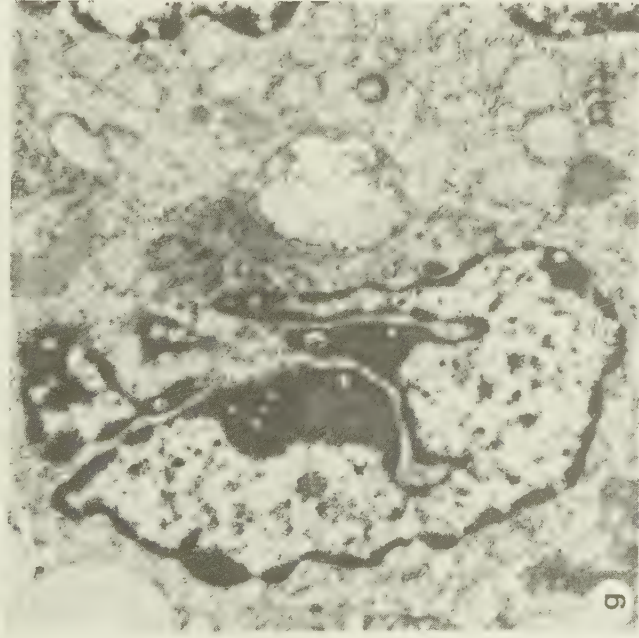
f

Zytoplasmainseln, die den von SVOBODA (1962) beschriebenen "Cytoplasmic lakes" entsprechen (Pfeile)

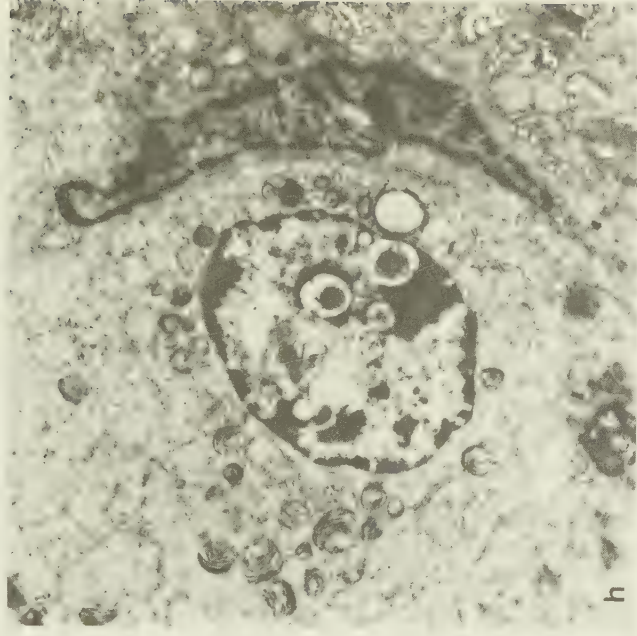
e) 11'598x

f) 8'042x

Abbildung 20: Ultrastruktur des Urethan-induzierten Lungen-Adenoms der Maus (Teil 4)

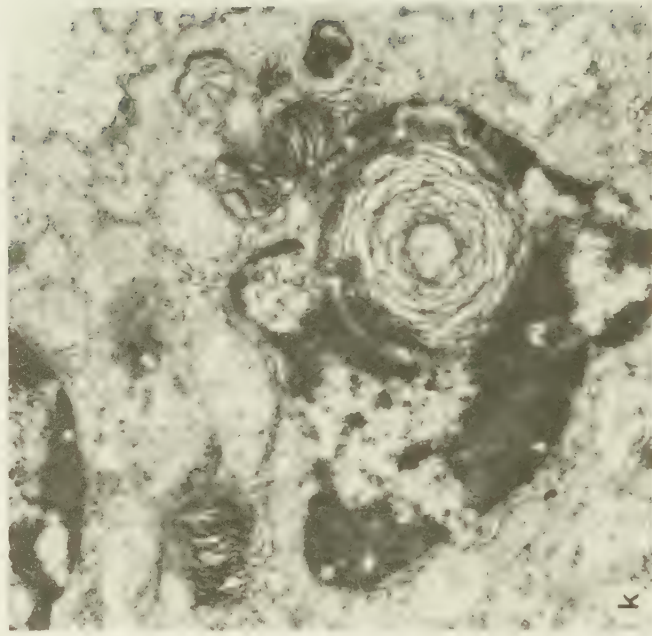
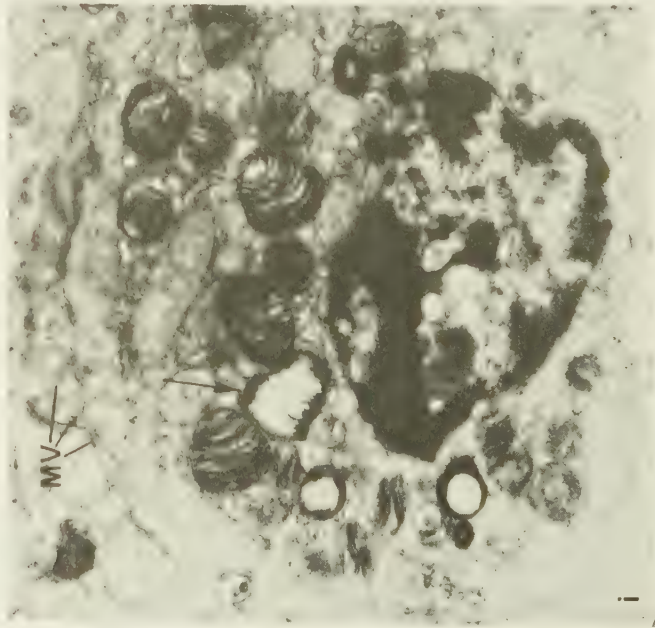


g) Zytoplasma-Einstülpungen in den Kern (11'598x)



h) Erscheinungsbild von Zytoplasma-Einstülpungen, die senkrecht zu den Invaginationsachsen geschnitten wurden als "intranukleäre Einschlüsse" (8'042x)

Abbildung 20: Ultrastruktur des Urethan-induzierten Lungen-Adenoms der Maus (Teil 5)

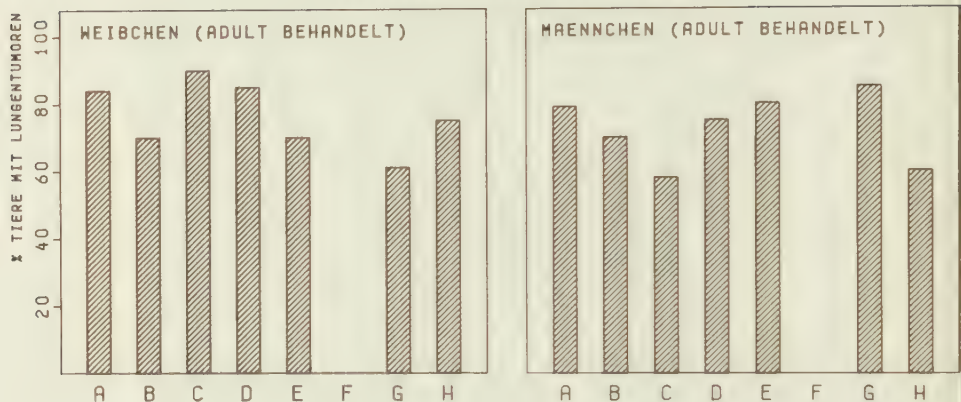


Sogenannte "intranukleäre Einschlüsse" als Folge der Zytoplasma-Invagination in den Kern

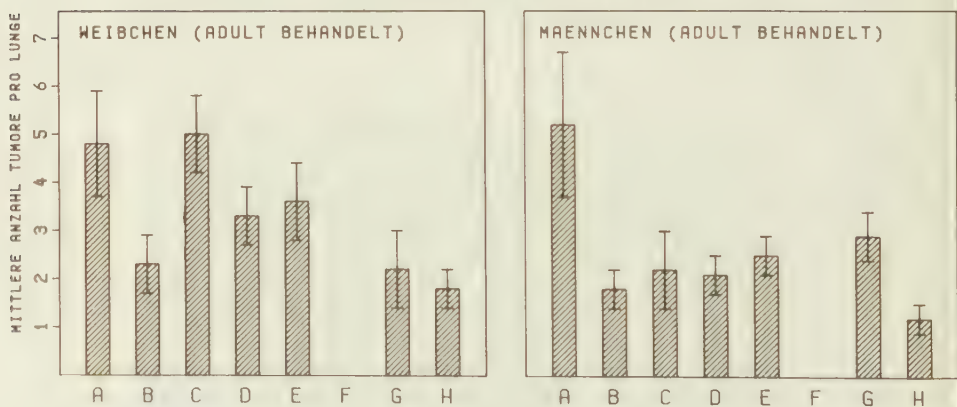
i) Das Erscheinungsbild des mit Pfeil bezeichneten Lamellarkörpers führte zur Vorstellung der Entstehung aus Mitochondrien. An der Zelloberfläche sind Mikrovilli (MV) erkennbar. (16'046x)

k) Myelinartige Struktur (16'046x)

TUMORPRAEVALENZ



TUMORFREQUENZ



A = URETHAN (KONTROLLE)

B = URETHAN + VITAMIN

C = URETHAN + COFFEIN

D = URETHAN + CHLOROQUIN

E = URETHAN + 5 cGy

F = URETHAN + 20 cGy

G = URETHAN + 100 cGy

H = URETHAN + 500 cGy

Abbildung 22

Veränderung der tumorigenen Wirkung von Urethan durch die gewählten Modifikatoren. Prävalenz und Frequenz 20 Wochen nach Behandlung adulter Tiere. (Genaue Werte und Statistik s. Tabelle 13a-b)

VERTEILUNG DER TUMORDURCHMESSER

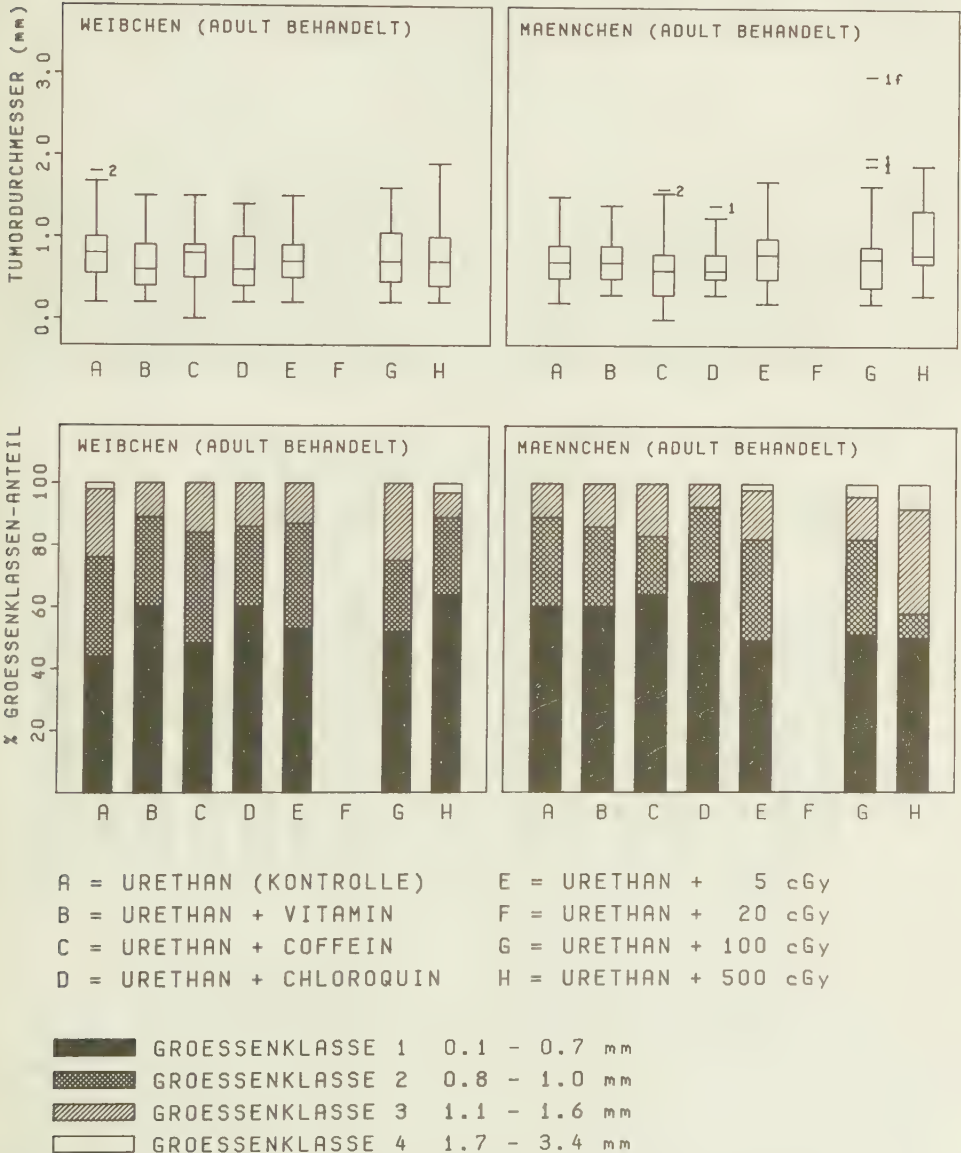
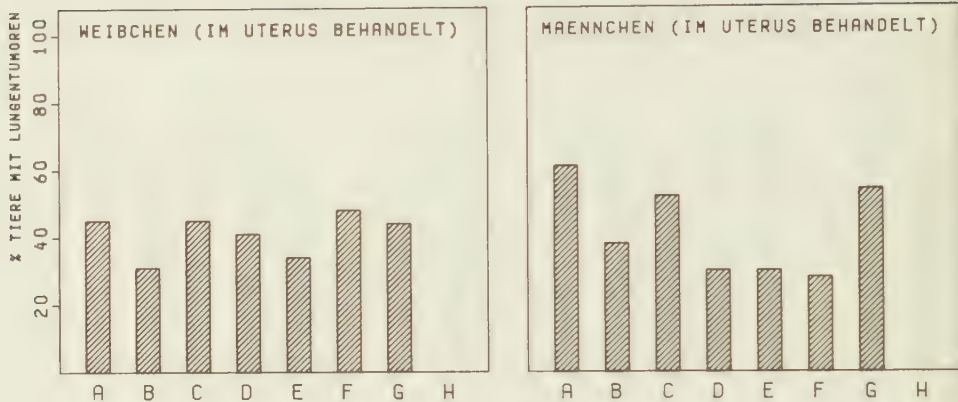


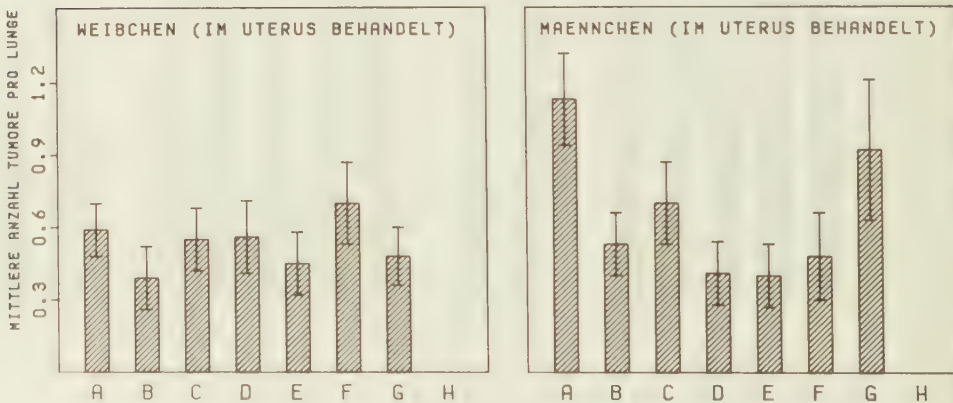
Abbildung 23

Einfluss der Zusatzbehandlungen auf den Malignitätsgrad, gemessen an der Tumorgrossen-Verteilung 20 Wochen nach Behandlung adulter Tiere. (Genaue Werte und Statistik s. Tabelle 13a-b)

TUMORPRAEVALENZ



TUMORFREQUENZ



A = URETHAN (KONTROLLE)

B = URETHAN + VITAMIN

C = URETHAN + COFFEIN

D = URETHAN + CHLOROQUIN

E = URETHAN + 5 cGy

F = URETHAN + 20 cGy

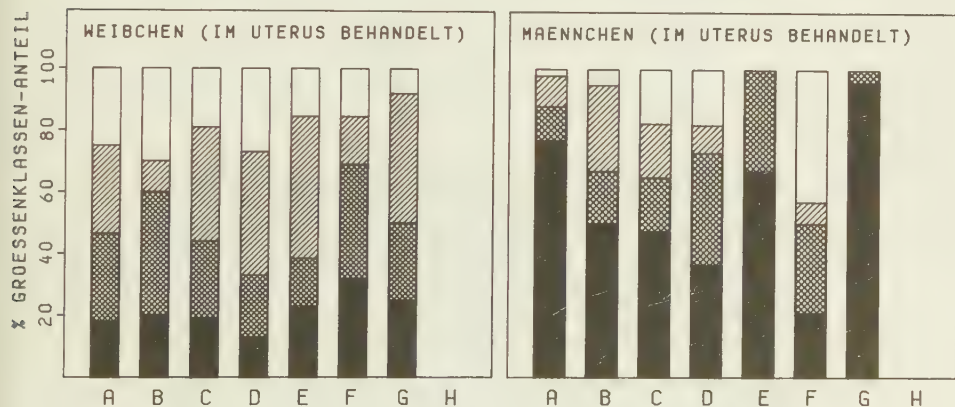
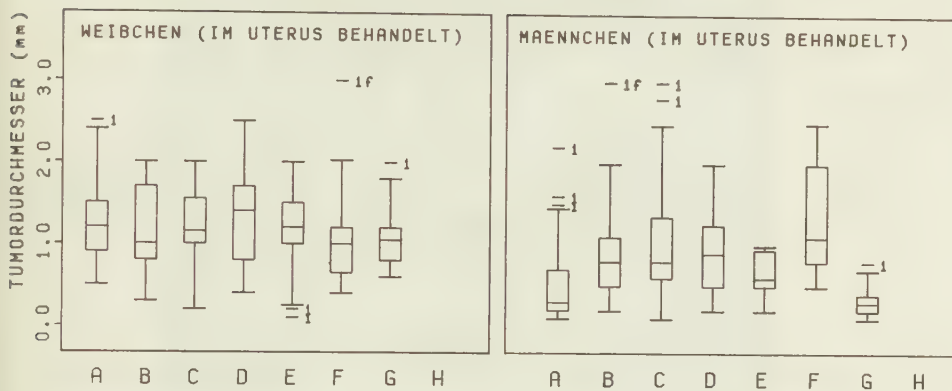
G = URETHAN + 100 cGy

H = URETHAN + 500 cGy

Abbildung 24

Veränderung der tumorigenen Wirkung von Urethan durch die gewählten Modifikatoren. Prävalenz und Frequenz 20 Wochen post partum der in utero behandelten Tiere. (Genauere Werte und Statistik s. Tabelle 13c-e)

VERTEILUNG DER TUMORDURCHMESSER



A = URETHAN (KONTROLLE)

B = URETHAN + VITAMIN

C = URETHAN + COFFEIN

D = URETHAN + CHLOROQUIN

E = URETHAN + 5 cGy

F = URETHAN + 20 cGy

G = URETHAN + 100 cGy

H = URETHAN + 500 cGy

GROESSENKLASSE 1 0.1 - 0.7 mm

GROESSENKLASSE 2 0.8 - 1.0 mm

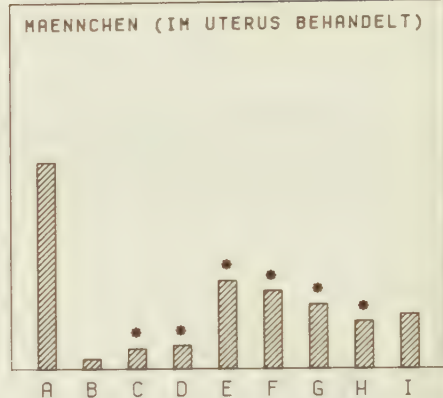
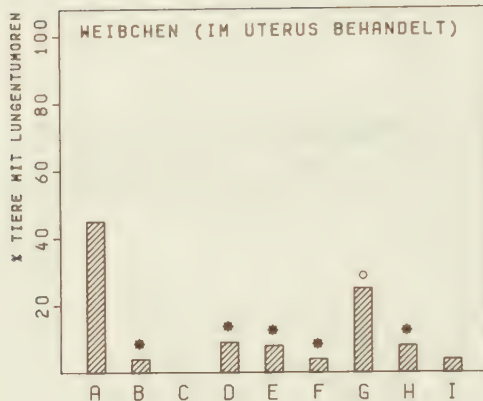
GROESSENKLASSE 3 1.1 - 1.6 mm

GROESSENKLASSE 4 1.7 - 3.4 mm

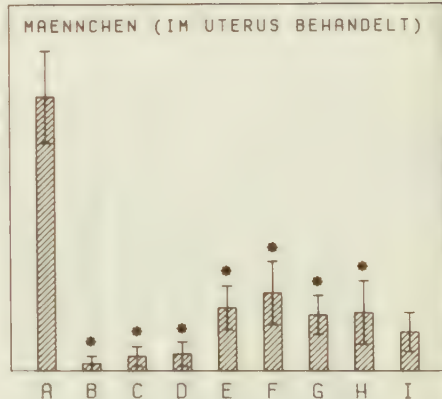
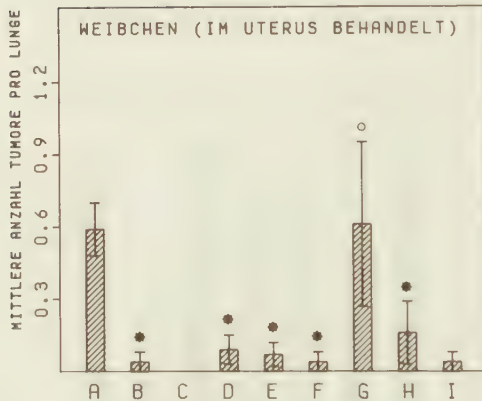
Abbildung 25

Einfluss der Zusatzbehandlungen auf den Malignitätsgrad, gemessen an der Tumorgößen-Verteilung 20 Wochen post partum der in utero behandelten Tiere. (Genaue Werte und Statistik s. Tabelle 13c-e)

TUMORPRAEVALENZ



TUMORFREQUENZ



A = URETHAN

B = VITAMIN

C = COFFEIN

D = CHLOROQUIN

E = 5 cGy

F = 20 cGy

G = 100 cGy

H = NATRIUMCHLORID

I = UNBEHANDELT

Abbildung 26

Kontrollversuch zur Abklärung einer allfälligen tumorigenen Wirkung der zur Modifikation gewählten Zusatzbehandlungen.

Statistisch nicht signifikante Unterschiede zu den unbehandelten Tieren sind mit * gekennzeichnet und bedeuten das Ausbleiben einer tumorigenen Wirkung. Nicht signifikante Unterschiede zur Urethanbehandlung (A) sind mit o gekennzeichnet und sprechen für eine tumorigene Wirkung.

(χ^2 -Test für Prävalenz; U-Test für Frequenz)

Abbildung 27

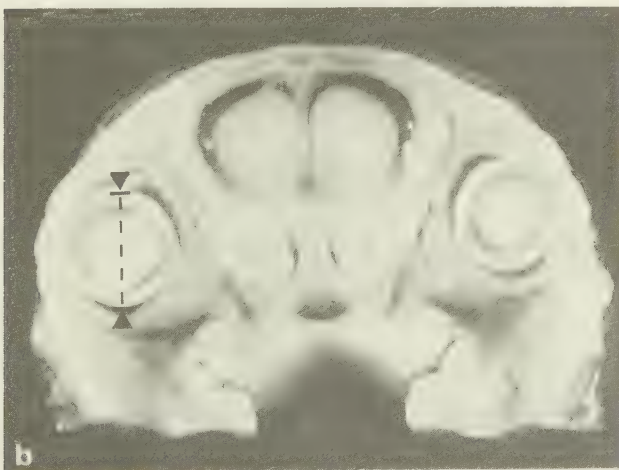
Schädigungen in Tag-18-Feten nach Behandlung am 14. Gestationstag



Polydaktylie: Die durch Urethan am häufigsten ausgelöste Schädigung.

links: normale rechte Hinterpfote

rechts: zusätzliche Zehe am linken Hinterfuss des selben Tieres



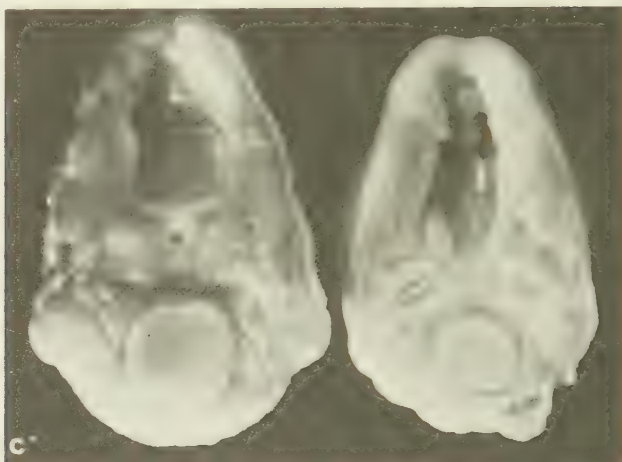
Frontalschnitt durch den vorderen Kopfbereich auf der Höhe der Augenanlage.

Der Messbereich zur Beurteilung der Augen-
grösse (Bestimmung der Mikrophthalmie) ist
gestrichelt eingezeichnet und wird durch den
äusseren Retinabereich begrenzt.

(Details im Kapitel 4.2)

Abbildung 27 (Fortsetzung)

Schädigung in 18-Tag-Feten nach Behandlung am 14. Gestationstag



Transversalschnitt durch den Kopf 18-tägiger Feten.

Links: Aufsicht auf den Oberkieferbereich eines ungeschädigten Feten mit intakter Gaumenplatte;
rechts: Gaumenspalte (Wolfsrachen)



links: normaler Fetus am Tag 18
rechts: Fetus mit Hirnbruch (Exencephalie)

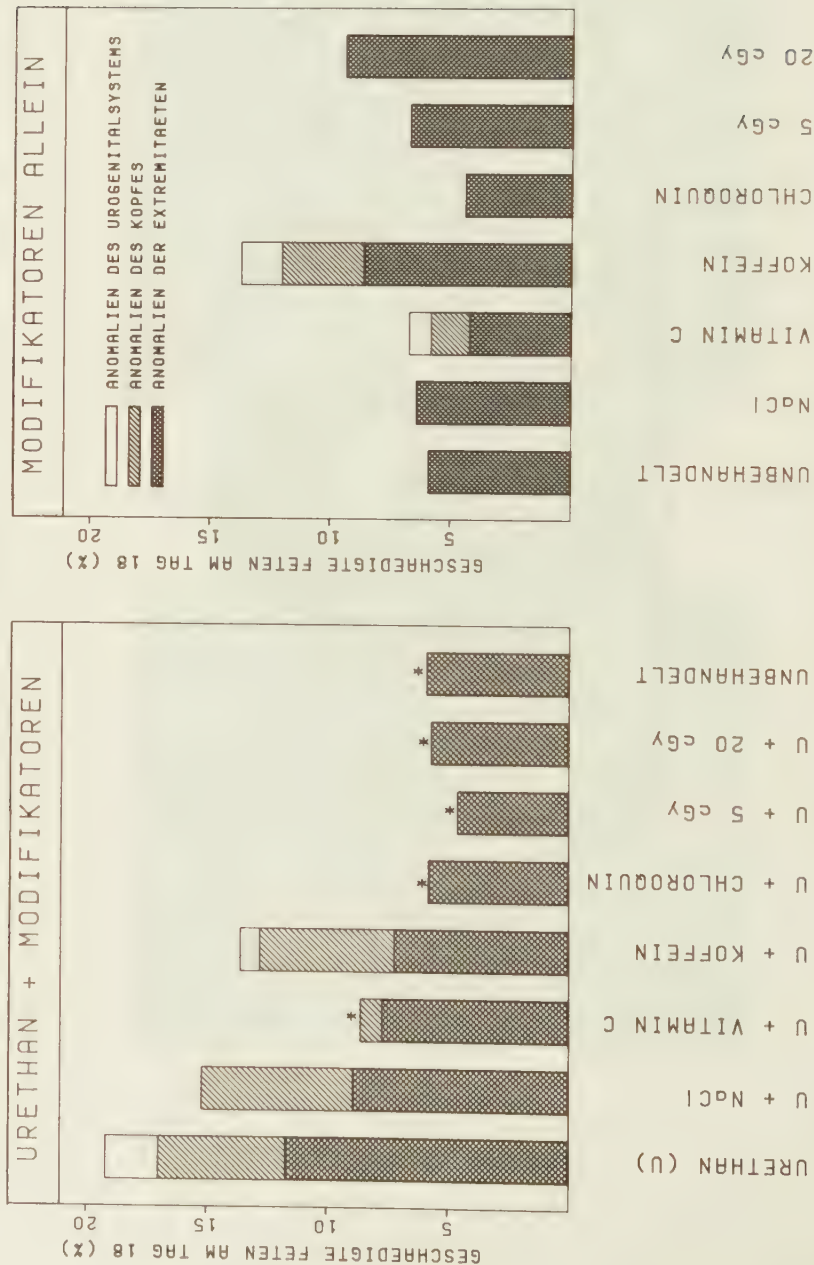
Abbildung 27 (Schluss)

Schädigung in Tag-18-Feten nach Behandlung
am Tag 14



Dysplasie der rechten Niere. Verbunden mit
der Verkleinerung (Hypoplasie) ist in allen
beobachteten Fällen das Fehlen der Nebenniere.

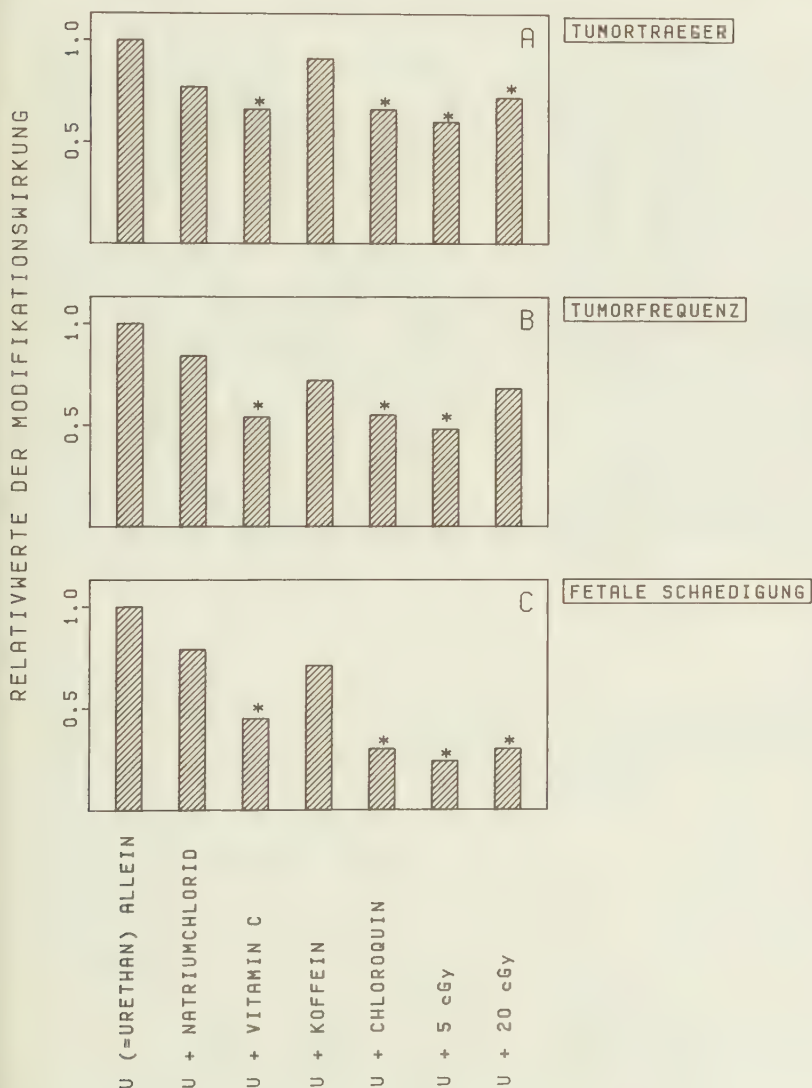
TERATOGENESE NACH BEHANDLUNG AM 14. GESTATIONSTAG



* = SIGNIFIKANTER UNTERSCHIED ZUR WIRKUNG DER ALLEINIGEN URETHANBEHANDLUNG (U-TEST; SIGNIFIANZWERTE s. TABELLE 14)

BEEINFLUSSUNG DER URETHAN-BEDINGTEN KARZINO- GENESE (A UND B) UND TERATOGENESE (C)

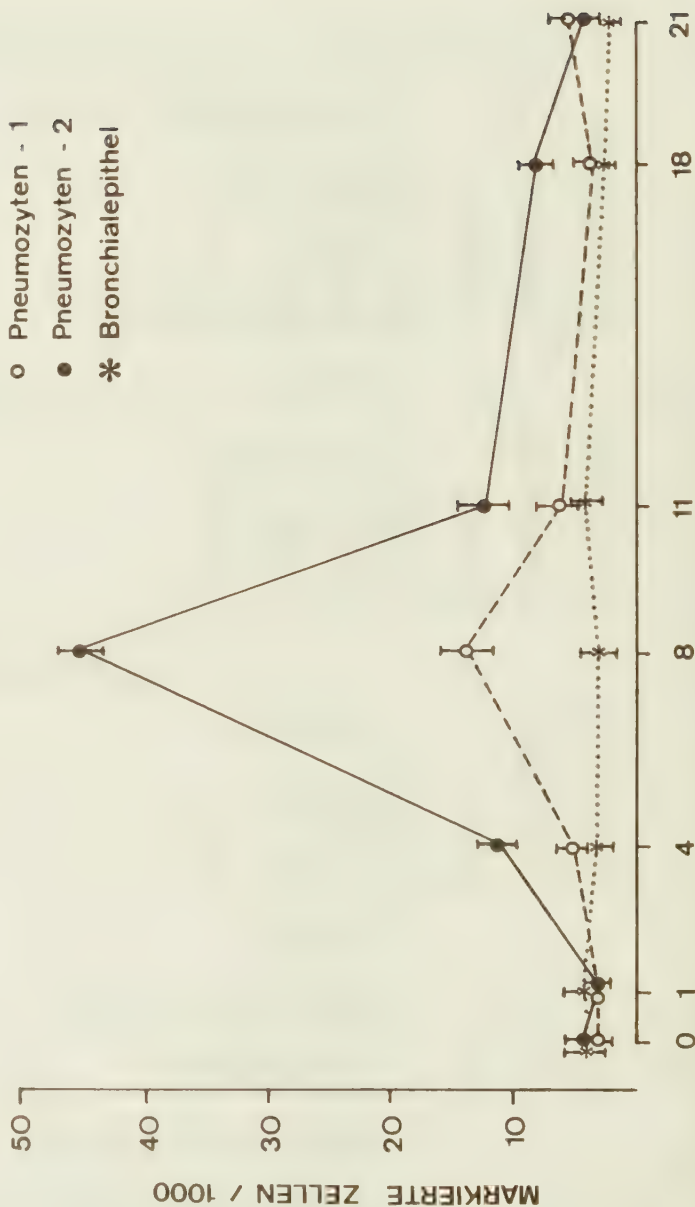
DIE RELATIVWERTE ZUR ANGABE DER MODIFIKATIONSSTÄRKE SIND BEZOGEN AUF
DIE DURCH ALLEINIGE URETHAN-BEHANDLUNG ERZIELTE WIRKUNG (= 1.0)



* = SIGNIFIKANTER UNTERSCHIED ZUR KONTROLLBEHANDLUNG (=URETHAN ALLEIN).
SIGNIFIKANZEN UND TESTMODUS SIEHE TABELLEN 13.5 UND 14

Abbildung 30:

DNS-Aktivität der Lungenepithelien zu unterschiedlichen Zeiten nach Urethangabe, gemessen am autoradiographisch ermittelten Anteil markierter Zellen nach 30-minütiger ^3H -Thymidin-Exposition.
(Die Balken geben die Schwankungsbereiche an, innerhalb welcher die Werte liegen. Die genauen Werte sind der Tabelle 15 zu entnehmen)



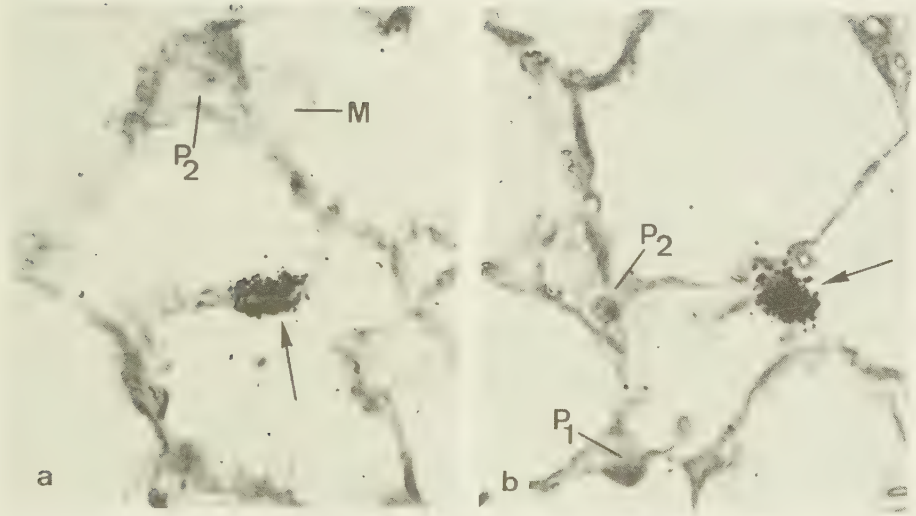


Abbildung 31

Autoradiographie des Lungengewebes 8 Tage nach Ürethangabe. Aus Zellen, die ^3H -Thymidin inkorporiert haben wird lokal Beta-Strahlung in die darüber liegende Fotoemulsion emittiert. Die dadurch reduzierten Silberkörner erscheinen nach Entwicklung als schwarze Punkte über den betroffenen Zellen (Pfeile).

- a) markierter Pneumozyt-1
- b) markierter Pneumozyt-2

(Vergrößerung: 1250x)

(P_1 = Pneumozyt-1; P_2 = Pneumozyt-2; M = Alveolarmakrophag)

DNS-AKTIVITAET IN PNEUMOZYTEN (WEIBCHEN)

EINBAU VON H³-THYMDIN INNERHALB 30 MINUTEN. MESSWERTE
FUEER DIE TAGE 1,4,8 UND 18 NACH URETHANGABE ODER MIT
URETHAN KOMBINIERTER ROENTGENBESTRAHLUNG

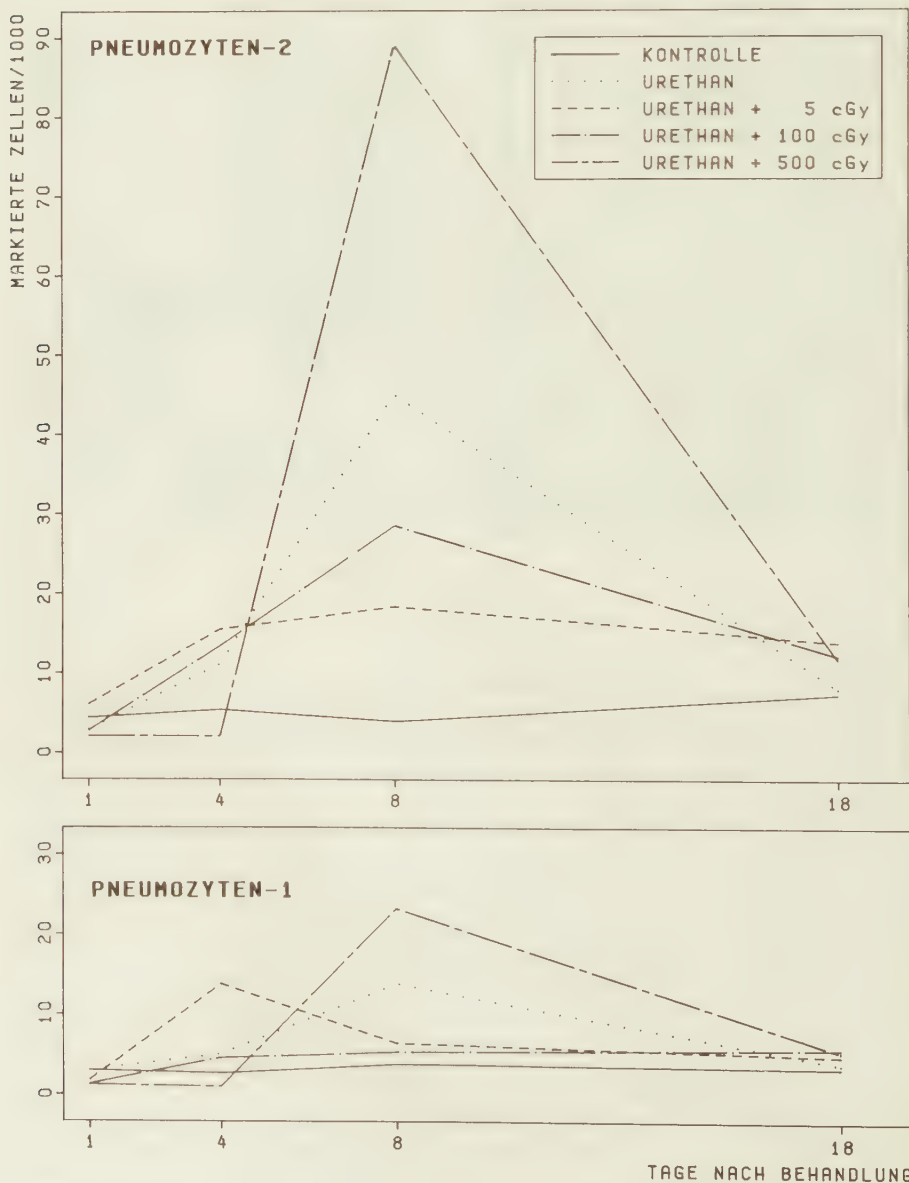


Abbildung 32

DNS-AKTIVITAET IN PNEUMOZYTEN (WEIBCHEN)

EINBAU VON H³-THYMDIN INNERHALB 30 MINUTEN. MESSWERTE FÜR DIE TAGE 1, 4, 8 UND 18 NACH URETHANGABE ODER MIT URETHAN KOMBINIERTER CHEMISCHER BEHANDLUNG

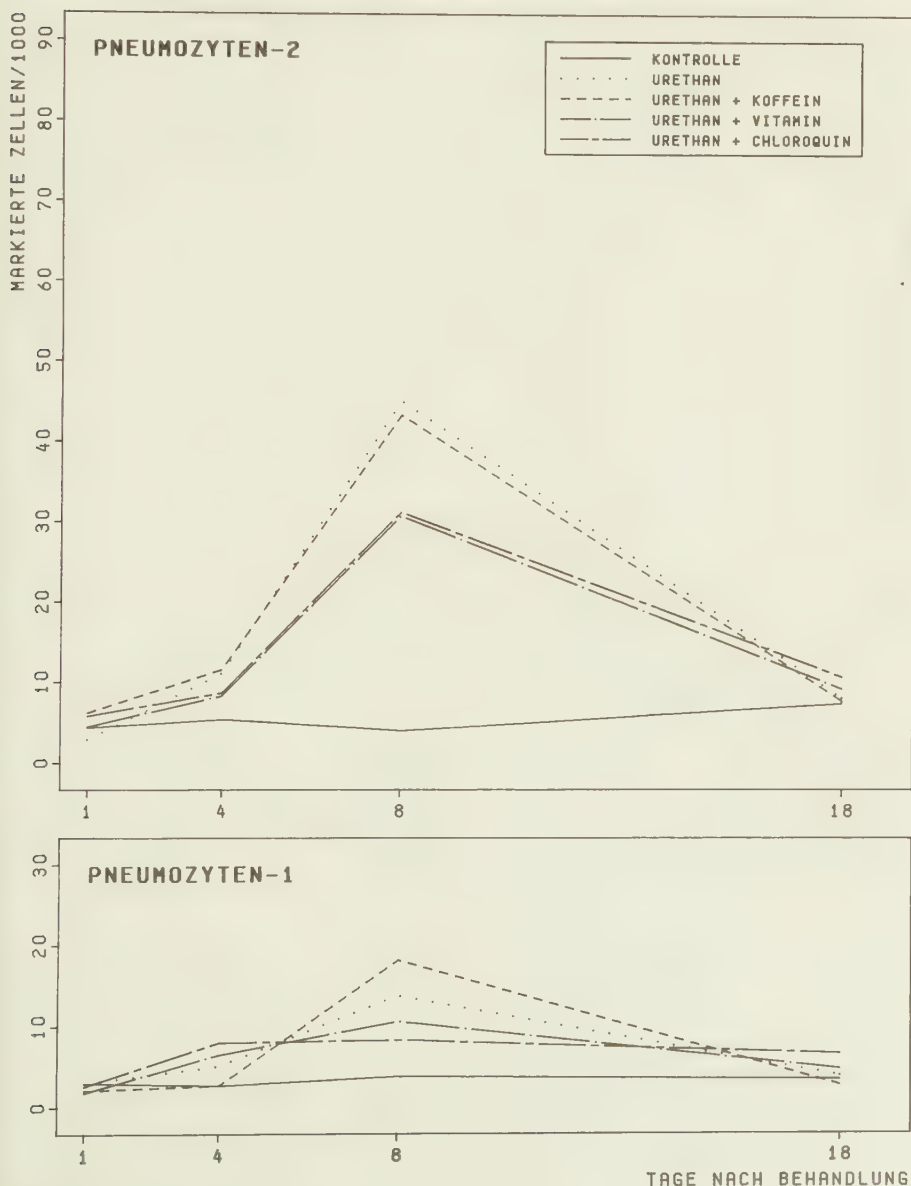


Abbildung 33

DNS-AKTIVITAET IN PNEUMOZYTEN (MAENNCHEN)

EINBAU VON H³-THYMINIDIN INNERHALB 30 MINUTEN. MESSWERTE FÜR DIE TAGE 1, 4, 8 UND 18 NACH URETHANGABE ODER MIT URETHAN KOMBINIERTER ROENTGENBESTRAHLUNG

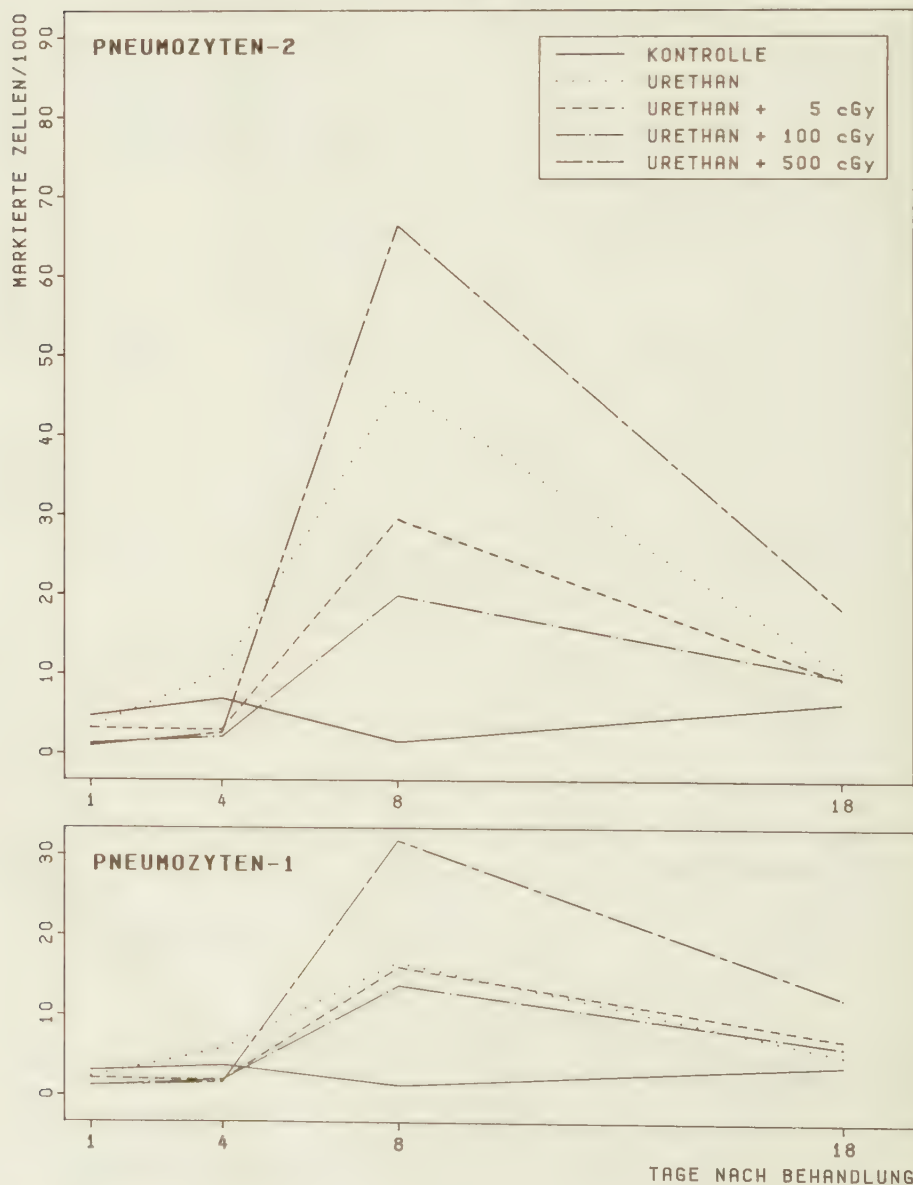


Abbildung 34

DNS-AKTIVITAET IN PNEUMOZYTEN (MAENNCHEN)

EINBAU VON H3-THYMIDIN INNERHALB 30 MINUTEN. MESSWERTE
FUEER DIE TAGE 1,4,8 UND 18 NACH URETHANGABE ODER MIT
URETHAN KOMBINIERTER CHEMISCHER BEHANDLUNG

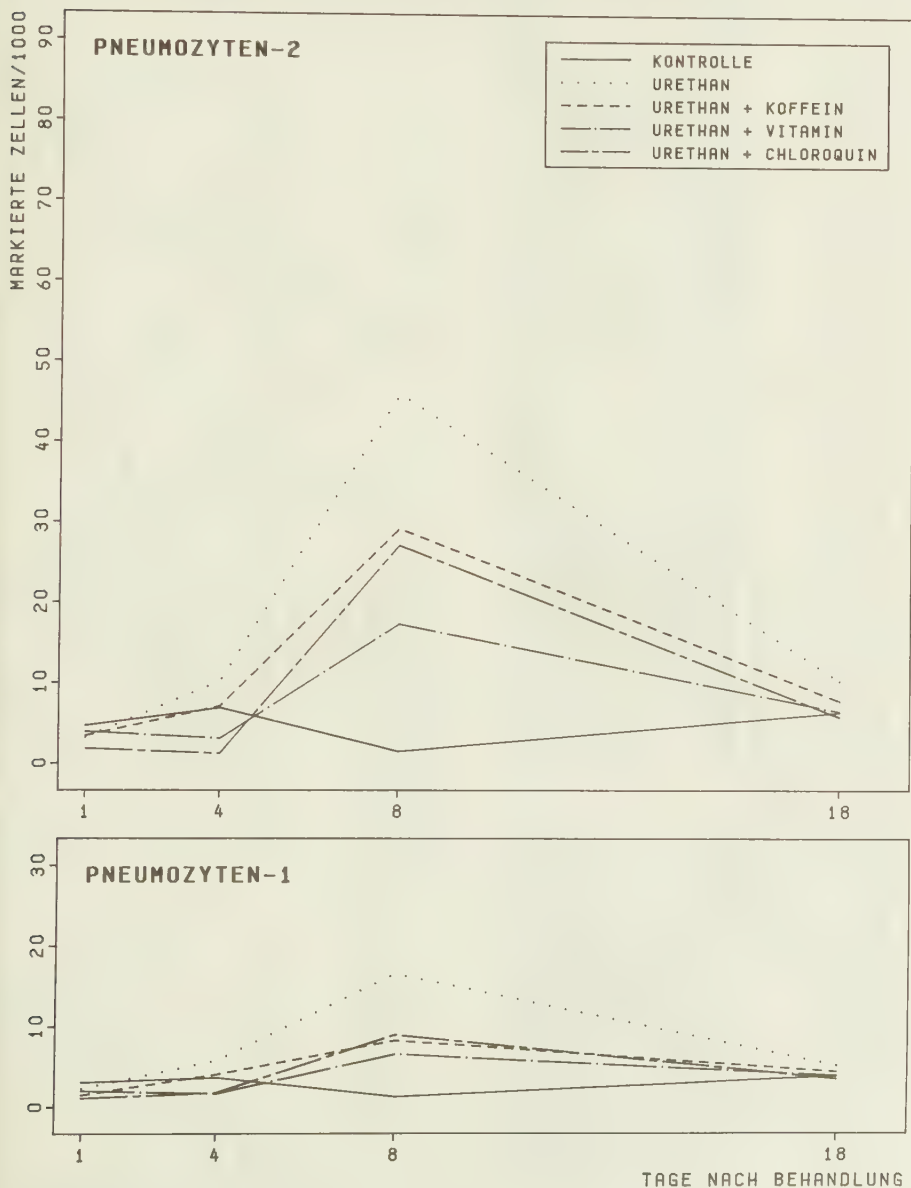
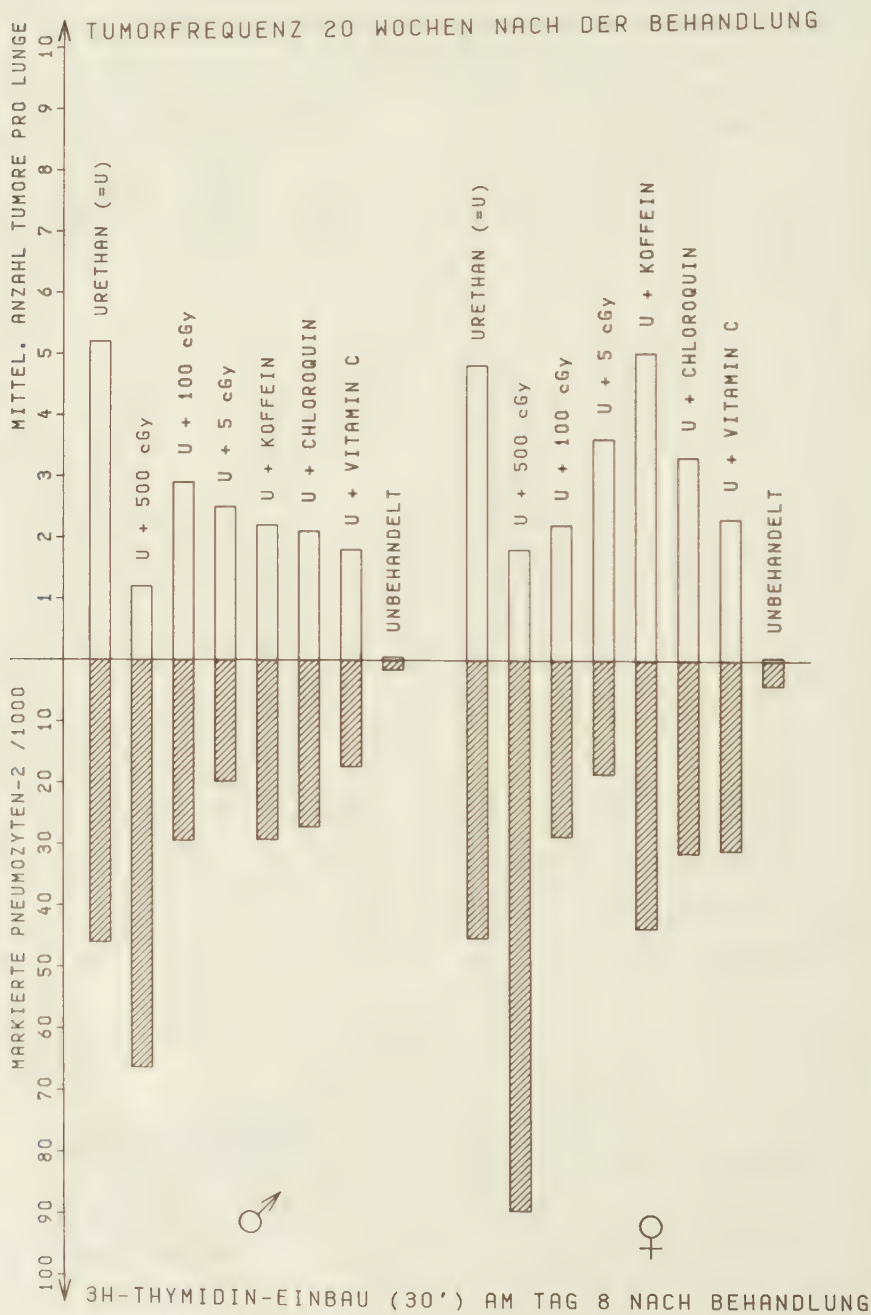


Abbildung 36: Vergleich des Ausmasses der Steigerung der DNS-Syntheseaktivität am Tag 8 nach der Behandlung mit der Tumor-Induktionsleistung (Tumorfrequenz) 20 Wochen nach der Behandlung



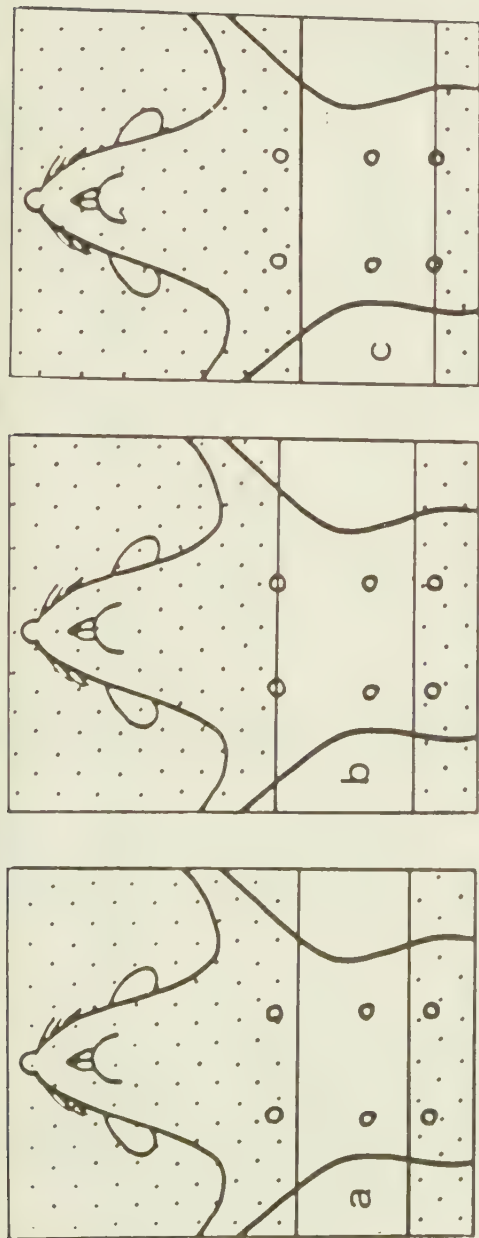
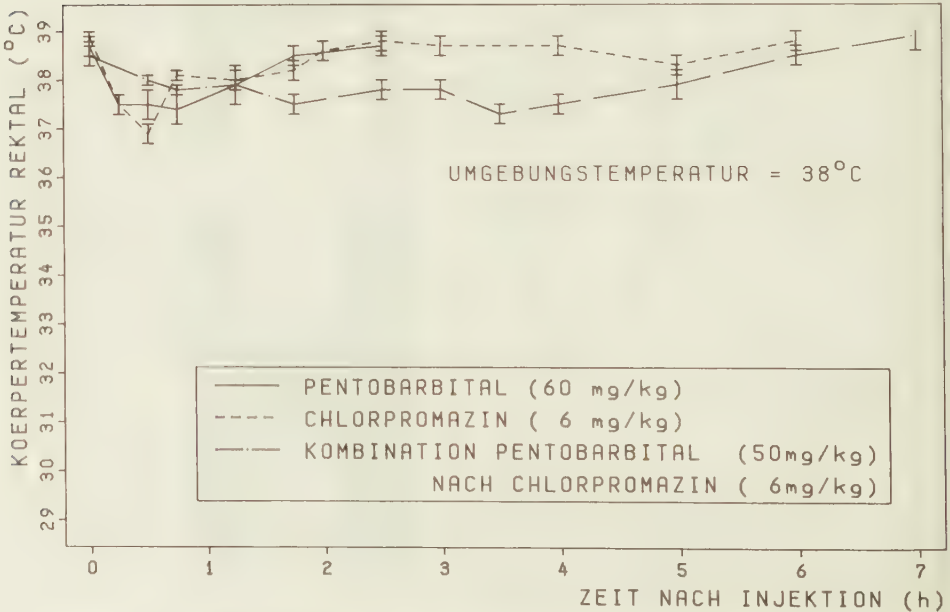
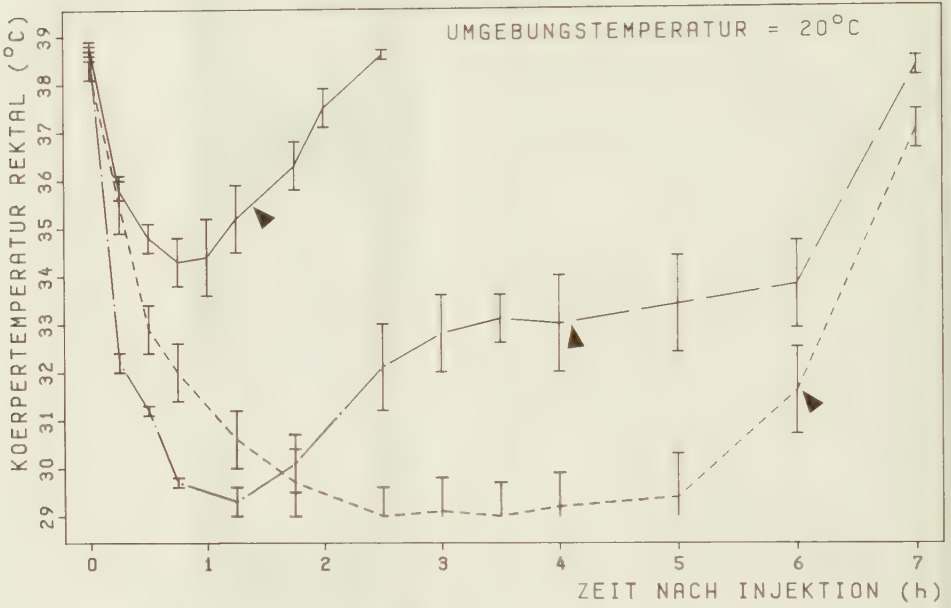


Abbildung 37

Zur selektiven Bestrahlung der Lungenregion ist die Abdeckung des Restkörpers mit Blei notwendig. Als Orientierungshilfe zum Anbringen der Abschirmung dienen die drei axillären Brustdrüsenpaare (oben). Auf Grund von Röntgenaufnahmen (unten) bei unterschiedlicher Positionierung der Bleiplatten wurde die obere Begrenzung des Strahlenfeldes ca. 1mm unterhalb des ersten und die untere Begrenzung auf der Höhe des dritten Drüsenpaares gewählt (Position C).

Abbildung 38

KOERPERTEMPERATUR NACH NARKOTIKA UND SEDATIVA



Der Pfeil (▲) bezeichnet das Ende der Sedations- bzw. Narkosewirkung

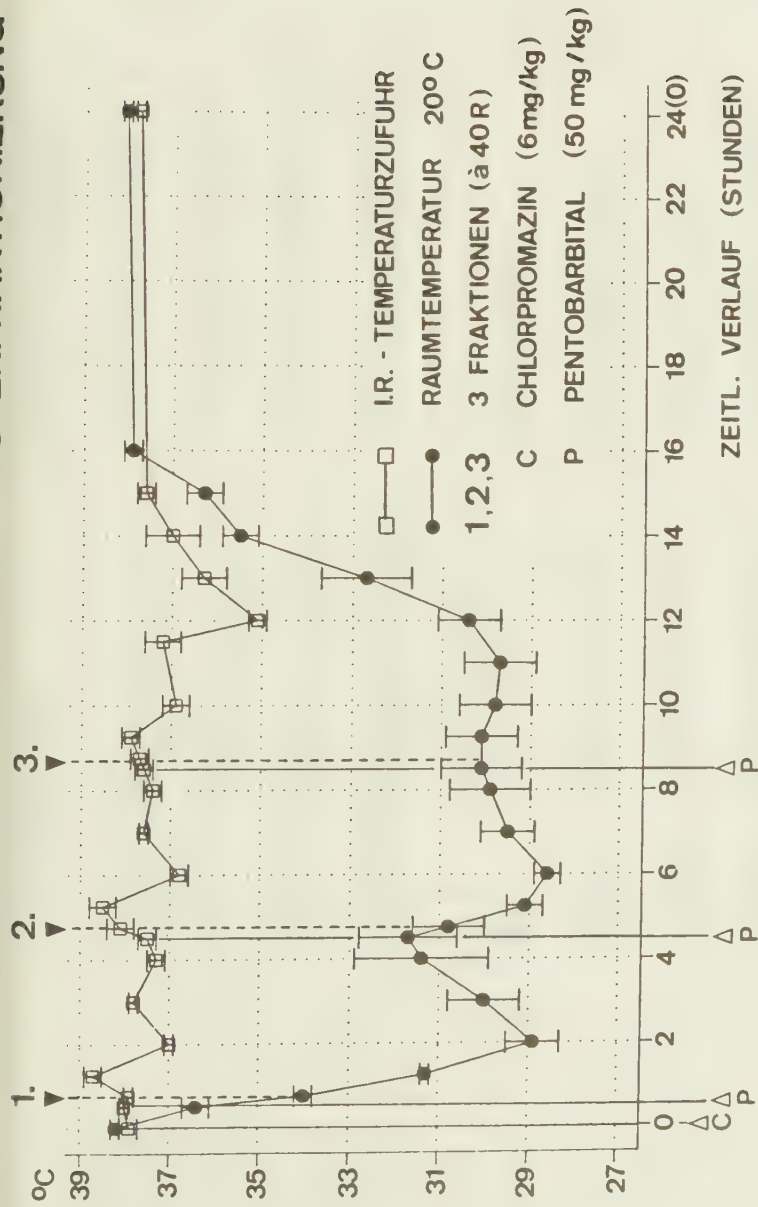
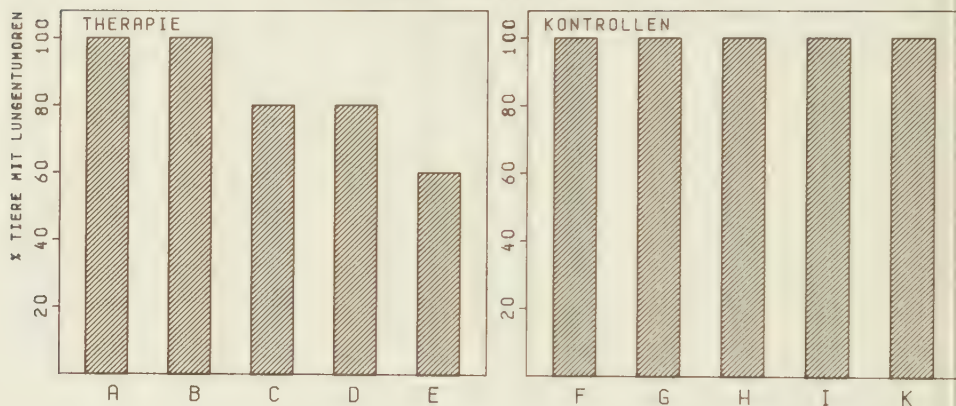


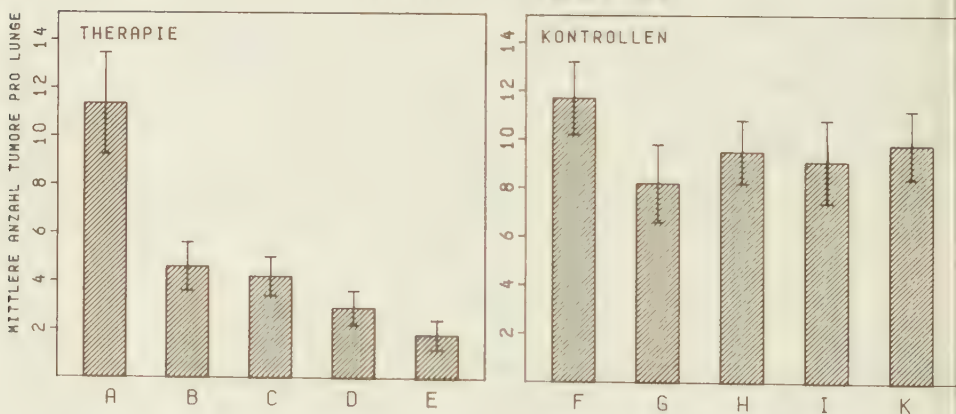
Abbildung 39

Verlauf der rektal gemessenen Körpertemperatur über 24 Stunden während der superfraktionierten Strahlentherapie. Abhängigkeit von den äusseren Temperaturverhältnissen. Zeitpunkt 0 entspricht 07.00 Uhr. (Weitere Erläuterungen im Text Kapitel 6.2)

TUMORPRAEVALENZ



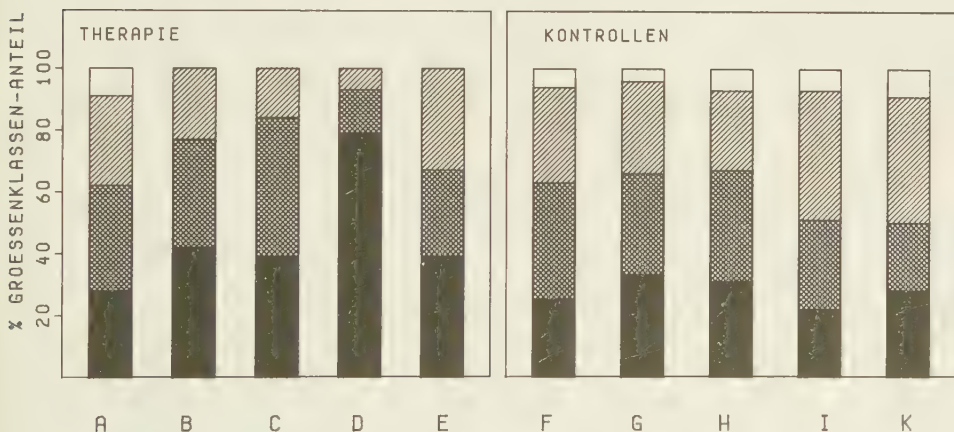
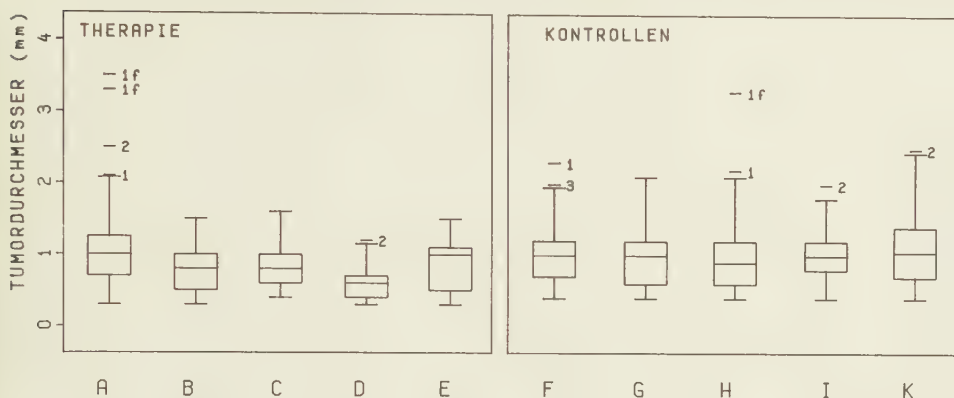
TUMORFREQUENZ



A = KEINE THERAPIE
 B = KONVENTIONELLE THERAPIE
 C = SUPERFRAKTIONIERUNG
 D = KONVENTIONELLE THERAPIE
 KOMBINIERT MIT CHLORPROMAZIN
 E = SUPERFRAKTIONIERUNG
 KOMBINIERT MIT CHLORPROMAZIN

F = CHLORPROMAZIN (1xTAEGL.)
 G = PENTOBARBITAL (1xTAEGL.)
 H = PENTOBARBITAL (3xTAEGL.)
 I = CHLORPROMAZIN (1xTAEGL.) +
 PENTOBARBITAL (1xTAEGL.)
 K = CHLORPROMAZIN (1xTAEGL.) +
 PENTOBARBITAL (3xTAEGL.)

VERTEILUNG DER TUMORDURCHMESSER



A = KEINE THERAPIE
 B = KONVENTIONELLE THERAPIE
 C = SUPERFRAKTIONIERUNG
 D = KONVENTIONELLE THERAPIE
 KOMBINIERT MIT CHLORPROMAZIN
 E = SUPERFRAKTIONIERUNG
 KOMBINIERT MIT CHLORPROMAZIN

F = CHLORPROMAZIN (1xTAEGL.)
 G = PENTOBARBITAL (1xTAEGL.)
 H = PENTOBARBITAL (3xTAEGL.)
 I = CHLORPROMAZIN (1xTAEGL.)
 + PENTOBARBITAL (1xTAEGL.)
 K = CHLORPROMAZIN (1xTAEGL.)
 + PENTOBARBITAL (3xTAEGL.)

GROESSENKLASSE 1 0.2 - 0.7 mm
 GROESSENKLASSE 2 0.8 - 1.0 mm
 GROESSENKLASSE 3 1.1 - 1.6 mm
 GROESSENKLASSE 4 1.7 - 3.4 mm

GEWICHTSVERLAUF WAEHREND UND NACH DER THERAPIE (THERAPIEDAUER : 6 WOCHEN)

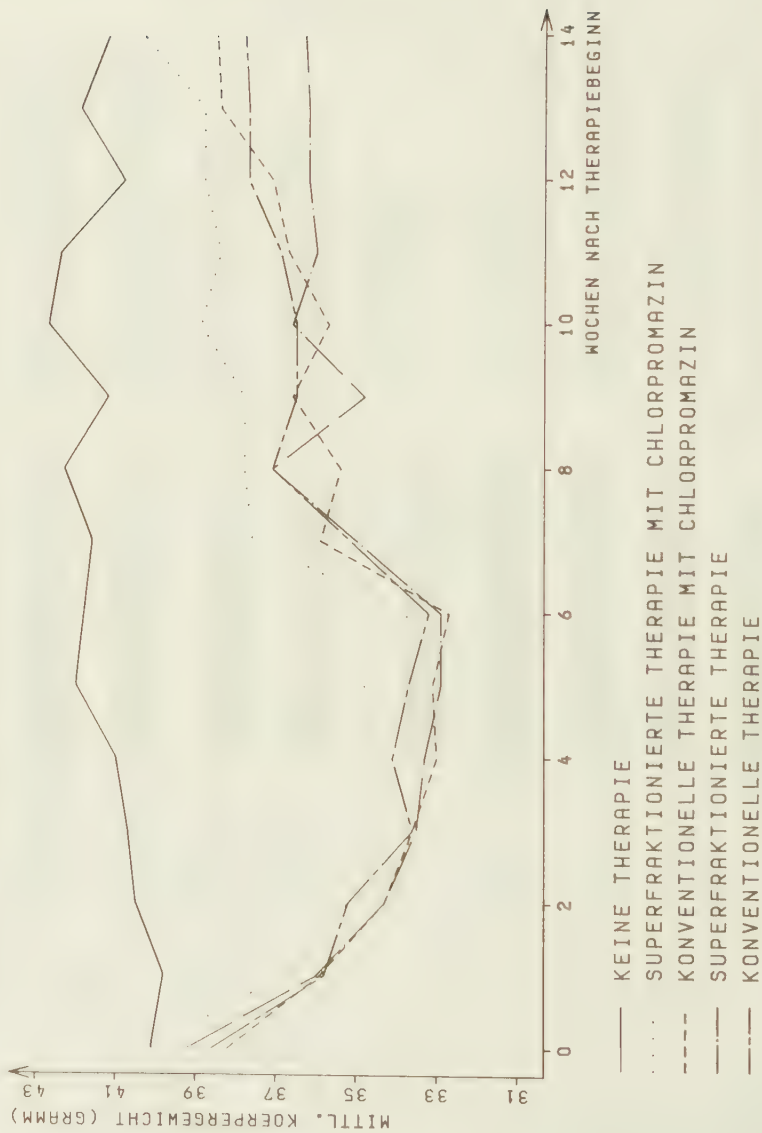


Abbildung 42

CURRICULUM VITAE

Burkard Walter, von Solothurn und Olten (SO), geboren in Zürich am 29. Januar 1946. In Solothurn besuchte ich die Primarschule und anschliessend während 4 Jahren das Gymnasium. 1963 trat ich ins Lehrerseminar der Kantonsschule Solothurn ein, wo ich im Frühjahr 1967 das Primarlehrerpatent erwarb. Anschliessend unterrichtete ich bis im Herbst 1969 an der Primarschule in Grenchen (SO). Im Wintersemester 1969/70 nahm ich an der Universität Zürich das Biologiestudium auf, das ich im Herbst 1976 mit dem Diplom als Naturwissenschaftler mit Hauptfach Zoologie abschloss. Ich besuchte Vorlesungen, Kurse und Kolloquien der Dozenten R. Bachofen, J. Biegert, M. Birnstiel, H. Burla, P.S. Chen, C.D.K. Cook, C.H. Eugster, H. Fritz-Niggli, E. Hadorn, H. Hediger, H.R. Hohl, K.A. Hünermann, H. Hunsperger, E. Jungen-Hauschteck, H. Jungen, S. Kubik, E. Kubli, E. Kuhn-Schnyder, R. Nöthiger, H.R. Oswald, D. Rast, H. Rieber, O. Rohweder, J. Schlittler, B. Stüssi, P. Tardent, E. Thomas, R. Trümpy, H. Wanner, R. Wehner, Ch. Weissmann, O. Woodtly und V. Ziswiler. 1977-1978 war ich mit einer cytologischen Forschungsarbeit zugunsten des Zürcher Zoos betraut, die von der Fritz Hoffmann-La Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz unterstützt wurde. Seit März 1978 arbeite ich am Strahlenbiologischen Institut der Universität Zürich als Mitarbeiter und Assistent und gehöre seit 1980 einer von der Eidg. Kommission für Strahlenschutz eingesetzten Arbeitsgruppe an.

Die vorliegende Dissertation führte ich unter der Leitung von Frau Prof. Dr. H. Fritz-Niggli aus.

